

Prüfung der Effektivität der staatlichen
Bekämpfungsmaßnahmen gegen die Papageienkrankheit
durch Untersuchungen ihres Erregers
(*Chlamydia psittaci*) unter Bedingungen
der Immunsuppression und Latenz

Franz Josef Pauels

1977



Digitized by the Internet Archive
in 2026

Aus dem Landesuntersuchungsamt für das Gesundheitswesen
Südbayern - Fachbereich Veterinärmedizin - Oberschleißheim

(Leiter: Prof.Dr.med.vet. Gg. Beck, Ltd. Veterinärdirektor)

vorgelegt über das

Institut für Medizinische Mikrobiologie, Infektions- und Seuchen-
medizin des Fachbereichs Tiermedizin der Universität München

Vorstand: Prof.Dr.Dr.h.c. Anton Mayr

Prüfung der Effektivität der staatlichen Bekämpfungsmaßnahmen gegen
die Papageienkrankheit durch Untersuchungen ihres Erregers (*Chlamydia*
psittaci) unter Bedingungen der Immunsuppression und Latenz

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der tiermedizinischen Doktorwürde
des Fachbereichs Tiermedizin
der Ludwig-Maximilians-Universität München

von
Franz Josef Pauels
aus
Xanten
München 1977

Gedruckt mit Genehmigung des Fachbereichs
Tiermedizin der Universität
München

Dekan: Prof. Dr. B. Vollmerhaus
Referent: Prof. Dr. G. Beck
Korreferent: Prof. Dr. Dr. h.c. J. Boch

Tag der Promotion: 29. Juli 1977



INHALTSVERZEICHNIS

	Seite
1. Einleitung	1
2. Schrifttum	2
2.1. Die Papageienkrankheit	2
2.1.1. Geschichtliche Entwicklung der Erkrankungsfälle	2
2.1.2. Entwicklung der Bekämpfungsmaßnahmen	6
2.1.2.1. Geschichtliche Entwicklung	6
2.1.2.2. Derzeit gültige Vorschriften	7
2.1.3. Epizootologie	8
2.1.3.1. Erregerübertragung	9
2.1.3.2. Natürliche Infektion von Haussäufern	9
2.1.3.3. Empfängliche Laboratoriumstiere	9
2.1.3.4. Ansteckungsmöglichkeiten für den Menschen	10
2.1.4. Klinik und Pathologie	11
2.1.4.1. Vögel	11
2.1.4.2. Laboratoriumsmaus	13
2.1.4.3. Mensch	14
2.1.5. Immunität	15
2.1.5.1. Physiologische Immunantwort	15
2.1.5.2. Immunitätsbildung nach Chlamydia psittaci	
Infektionen	16
2.1.6. Behandlungsmethoden	17
2.1.6.1. Behandlungssystem bei Psittaciden	17
2.1.6.1.1. Gesetzlich vorgeschriebene Behandlung	17
2.1.6.1.2. Behandlungskontrolle	18
2.1.6.1.2.1. Wissenschaftliche Grundlage	19
2.1.6.1.2.2. Diskussion in der BRD	20
2.1.6.2. Behandlung bei sonstigen Vögeln	22
2.1.6.3. Behandlung beim Menschen	22
2.2. Chlamydia psittaci	23
2.2.1. Klassifizierung	23
2.2.2. Aufbau, Formen und Abgrenzung zu Bakterien und Rickettsien	23

2.2.3.	Tenazität	24
2.2.4.	Entwicklungszyklus	24
2.2.5.	Wachstum in Zellkulturen	25
2.2.6.	Möglichkeiten des Nachweises	26
2.2.7.	Chemische Substanzen in ihrer Wirkung auf die Chlamydienvermehrung	27
2.2.7.1.	Folsäure	27
2.2.7.2.	Antibiotika und Chemotherapeutika	28
2.2.7.2.1.	Sulfonamide, Penicillin und Antimetaboliten	28
2.2.7.2.2.	Chlortetracyclin und andere die Proteinsynthese beeinflussende Arzneien	29
2.2.8.	Resistenzentwicklung	30
2.3.	Latenz	31
2.3.1.	Definition	31
2.3.2.	Beschriebene Latenzfälle	31
2.3.3.	Modell der latenten Infektion	32
2.3.3.1.	Modell nach Morgan	32
2.3.3.2.	Modell nach Pollard und Sharon	33
2.4.	Immunsuppression	34
2.4.1.	Definition	34
2.4.2.	Antimetaboliten und ihre Wirkung auf die Immunantwort	35
2.4.3.	Folsäureantagonisten	36
2.4.3.1.	Aminopterin	36
2.4.3.2.	Amethopterin	36
2.4.3.2.1.	Chemische Struktur	36
2.4.3.2.2.	Biochemische Wirkung	37
2.4.3.2.3.	Pharmakologie	37
2.4.4.	Citrovorumfaktor	39
3.	Eigene Untersuchungen	40
3.1.	Material und Methoden	40
3.1.1.	Versuchstiere	40
3.1.2.	Chlamydienstämme	40
3.1.2.1.	Chlamydienanreicherung	40
3.1.2.2.	Aufbereitung und Lagerung	42

3.1.2.3.	Titration der Chlamydiensuspension	42
3.1.3.	Zellkulturen	42
3.1.3.1.	Ansatz der Hühnerembryofibroblasten zellkultur (FHE)	42
3.1.3.2.	Infektion der Zellkultur	43
3.1.4.	Nachweismethode des Erregers Chlamydia psittaci	43
3.1.4.1.	Stamp-Färbung	43
3.1.4.2.	Direkte Immunofluoreszenz	44
3.1.4.3.	Nachweis des Erregers aus Medium- und Zellphase der infizierten Zellkultur	44
3.1.5.	Verwendete Arzneispezialitäten	45
3.1.5.1.	Chlortetracyclin (CTC)	45
3.1.5.2.	Amethopterin (AP)	45
3.1.5.3.	Citrovorumfaktor	46
3.1.6.	Resistenztest der Chlamydienstämme gegen Chlortetracyclin und dessen statistische Auswertung	46
3.2.	Versuche und Ergebnisse	48
3.2.1.	LD ₅₀ -Bestimmung und Resistenztest gegen Chlortetracyclin der verwendeten Chlamydien- feldstämme	48
3.2.1.1.	LD ₅₀ -Bestimmung der Chlamydienstämme	48
3.2.1.2.	Chlortetracyclinempfindlichkeit der Chlamydienstämme (Resistenztest)	49
3.2.2.	Immunsuppressionsversuch bei mit Chlamydia psittaci infizierten und mit Chlortetracyclin behandelten Mäusen	51
3.2.3.	Die Wirkung des Chlortetracyclins auf die Vermehrung von Chlamydia psittaci in Zell- kulturen unter Amethopteringeinfluß	57
4.	Besprechung der Ergebnisse	61

5.	Zusammenfassung	68
6.	Summary	69
7.	Literaturverzeichnis	70

1. Einleitung

Die Papageienkrankheit stellt als Zooanthroponose eine schwerwiegende Bedrohung der menschlichen Gesundheit dar. Mit der Zunahme der Ziervogelhaltung im häuslichen Bereich läßt sich ein deutlicher Anstieg der gemeldeten Erkrankungsfälle an Psittakose und Ornithose in der Bundesrepublik Deutschland feststellen. Eine Hauptinfektionsquelle stellen die Psittaciden dar. Nach ihrem Import aus Obersee und trotz der staatlich vorgeschriebenen Quarantänebehandlung mit Medizinalfutter, dessen Wirkstoff das Chlortetracyclin ist, kommen sie häufig als latente Träger der Papageienkrankheit in die Haushaltungen. Obwohl die Länge der Behandlung genau vorgeschrieben ist und die ausreichende Chlortetracyclinaufnahme durch Blutspiegelbestimmung kontrolliert wird, kann es zu einem späteren Zeitpunkt bei den behandelten Tieren durch unspezifische Stress auslösende Faktoren zum Ausbruch einer klinisch apparenten Infektion kommen.

Im Rahmen dieser Arbeit sollte untersucht werden, ob das Chlortetracyclin unter Bedingungen der Latenz und Immunsuppression in der Lage ist, den erwarteten Anforderungen gerecht zu werden.

2. Schrifttum

2.1. Papageienkrankheit

2.1.1. Geschichtliche Entwicklung der Erkrankungsfälle

Berichte über Psittakose wurden schon von Ritter im Jahre 1879 aus der Schweiz geliefert (FORTNER, 1955). Ein erstes größeres Seuchengeschehen ereignete sich 1892 in Paris (BEER, 1968). Einzel- und Gruppenerkrankungen von Menschen wurden von Morange 1895 erstmals mit dem Namen Psittakose belegt, da diese offensichtlich mit dem Kontakt mit Papageienvögeln in Zusammenhang standen (BORKI, 1970). Im Winter 1929/30 traten als Folge von Papageienimporten aus Südamerika in 12 europäischen Staaten und in den USA schwere Erkrankungen beim Menschen auf. In Europa erkrankten bei diesem Seuchenzug ca. 800 Personen. Die Letalität betrug 35-40% (BEER, 1968; BORKI, 1970).

Im Deutschen Reich wurden in den Jahren der Seuchenhöhepunkte 1929 und 1934 bei 155, bzw. 167 Personen Erkrankungs- und 31 bzw. 15 Todesfälle gezählt (REICHSGESUNDHEITSBLATT, 1934; FORTNER, 1953). Nach dem Jahre 1934 nahm die Papageienkrankheit in Deutschland stark ab. Dies war sowohl auf die strenge Durchführung des Gesetzes zur Bekämpfung der Papageienkrankheit (Psittacosis) als auch auf die eingeschränkte Haltung von Haustieren während der Kriegs- und Nachkriegszeit zurückzuführen.

In der Bundesrepublik Deutschland wurde ab 1950 parallel zu der stark zunehmenden privaten Psittacidenhaltung ein Wiederanstieg der Erkrankungsfälle beim Menschen beobachtet (GEISLER et al., 1970). Die Entwicklung der registrierten Fälle beim Menschen geht aus der Abb. Nr. 1 hervor. Die Bedeutung der Psittakose/Ornithose in Bayern wird durch die Anzahl und Ergebnisse der Untersuchungen am Landesuntersuchungsamt für das Gesundheitswesen Südbayern - Fachbereich Veterinärmedizin - Oberschleißheim in den Tabellen I und II verdeutlicht.

Bei der Bewertung der Untersuchungszahlen und der festgestellten Psittakose/Ornithose-Fälle ist hinsichtlich des wirklichen Seuchengeschehens eine hohe Dunkelziffer zu berücksichtigen (ANDERS, 1962).

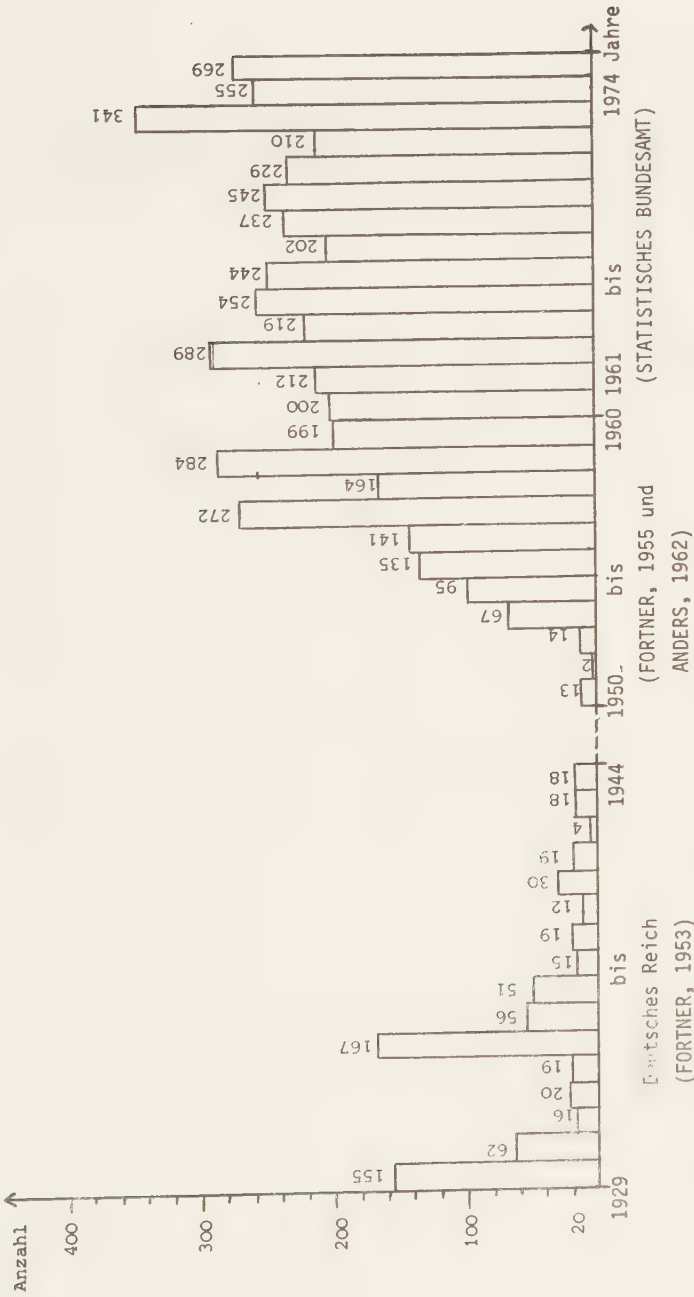


Abbildung 1: Erkrankungsfälle des Menschen an Psittakose/Ornithose im Deutschen Reich 1929-1944 und in der Bundesrepublik Deutschland 1950-1974

Tabelle I:

Serologische Untersuchungen auf das Vorliegen von komplementbindenden Antikörpern gegen Psittakose/Ornithose in Humanseren am Landesuntersuchungsamt für das Gesundheitswesen Südbayern - Fachbereich Veterinärmedizin - Oberschleißheim in den Jahren 1960 bis 1976

Jahr	Anzahl der Proben	positives Ergebnis	
		Gesamtzahl	Prozent
1960	5	4	80
1961	24	6	25
1961	34	4	11
1963	56	6	11
1964	140	8	6
1965	147	9	6
1966	285	22	8
1967	291	14	5
1968	409	35	9
1969	452	13	3
1970	485	20	4
1971	600	14	2
1972	699	56	8
1973	991	59	6
1974	1225	45	4
1975	1191	79	7
1976	1086	14	1
Summe	8120	406	Ø 5

Tabelle II:

Untersuchungen auf das Vorliegen von Chlamydia psittaci in Organ- und Kotproben von Vögeln am Landesuntersuchungsamt für das Gesundheitswesen Südbayern - Fachbereich Veterinärmedizin - Oberschleißheim in den Jahren 1966 bis 1976.

Jahr	Vögel und Organe	davon positiv	Kotproben	davon positiv
1966	86	2 (2%)	513	10 (2%)
1967	107	8 (8%)	821	4 (1%)
1968	277	35 (13%)	444	18 (4%)
1969	215	38 (18%)	428	7 (2%)
1970	361	51 (14%)	402	27 (7%)
1971	205	47 (23%)	681	72 (10%)
1972	359	31 (9%)	678	5 (1%)
1973	478	109 (23%)	1044	41 (4%)
1974	759	129 (17%)	627	17 (3%)
1975	517	69 (13%)	544	19 (4%)
1976	484	57 (12%)	317	7 (2%)
Summe	3848	576 (15%)	6499	227 (3,4%)

2.1.2. Entwicklung der Bekämpfungsmaßnahmen

2.1.2.1. Geschichtliche Entwicklung

Fast gleichzeitig mit dem ersten großen Seuchenzug im Jahre 1930 wurde von Levinthal in Deutschland, Coles in England und Lillie in den USA der Erreger der Psittakose entdeckt. Durch den Nachweis der nach ihren Entdeckern benannten LCL-Einschlußkörpern konnte der Verseuchungsgrad unter den einzelnen Vogelarten nunmehr festgestellt werden (BEER, 1968). Dabei zeigte sich, daß die Wellensittiche Hauptträger und Oberträger der Papageienkrankheit waren (FORTNER, 1953, 1955 und 1968). Das am 14.1.1930 erlassene Einfuhrverbot für Papageien und Sittiche erwies sich jedoch wegen des sehr hohen Verseuchungsgrades der inländischen Bestände und Zuchten als wirkungslos (REICHSGESUNDHEITSBLATT, 1934).

Da weder das Viehseuchengesetz vom 26. Juni 1909 (RGBl I, S. 519) noch das Gesetz, betreffend die Bekämpfung gemeingefährlicher Krankheiten (Seuchengesetz) vom 30. Juni 1900 (RGBl I, S. 306) eine Handhabe zur Bekämpfung dieser Seuche boten, wurde zur Schaffung einer Rechtsgrundlage das selbständige Gesetz zur Bekämpfung der Papageienkrankheit (Psittacosis) und anderer übertragbarer Krankheiten vom 3. Juni 1934 (RGBl I, S. 532) erlassen. Es regelte sowohl die bei den Vögeln zu treffenden Maßnahmen als auch das Vorgehen bei Erkrankungen des Menschen (LOBKE und CISZEWSKI, 1963; REICHSGESUNDHEITSBLATT, 1934; REICHSGESETZBLATT, 1934).

Zur Durchführung dieses Gesetzes erging eine Verordnung des Reichsministers des Innern zur Bekämpfung der Papageienkrankheit (Psittacosis) vom 14. Aug. 1934 (REICHSGESETZBLATT, 1934a). Man ergänzte und änderte die darin enthaltenen Bestimmungen durch die 2. und 3. Verordnung zur Bekämpfung der Papageienkrankheit vom 13. Dezember 1937 (REICHSGESETZBLATT, 1937) und vom 4. November 1938 (REICHSGESETZBLATT, 1938). Im wesentlichen regelten diese Vorschriften die Überwachung der Einfuhr, der Zucht und des Handels mit Psittaciden. Zur Erleichterung von epidemiologischen Untersuchungen im Seuchenfall wurden Anordnungen über die unverwechselbare Kennzeichnung der Tiere mittels Fußringen und das Führen von Nachweisbüchern erlassen. Behandlungsmaßnahmen waren nicht vorgesehen.

Die wegen des Krieges aufgehobene Beringungs- und Genehmigungspflicht für den Handel mit Papageien und Sittichen wurde durch einen Runderlaß des Bundesministers für Ernährung, Landwirtschaft und Forsten vom 29. November 1950 für die Bundesrepublik Deutschland wieder in Kraft gesetzt. (BROGGEMANN, 1952).

Im Bundesseuchengesetz zur Verhütung und Bekämpfung übertragbarer Krankheiten beim Menschen vom 18. Juli 1961 (BGBI. I, S. 1012) wurde der Erkenntnis Rechnung getragen, daß der Mensch sich sowohl von Papageien und Sittichen als auch von den übrigen Vogelarten infizieren kann. (ANDERS und PRYM, 1959). Dabei wurde "Ornithose" als Oberbegriff zu "Psittakose" und den "übrigen Formen" gewählt. Die gesetzlichen Bestimmungen, die den Menschen betrafen, wurden somit aus dem Gesetz zur Bekämpfung der Papageienkrankheit von 1934 herausgenommen. (ANDERS, 1961).

Durch die Änderung des Viehseuchengesetzes vom 22. Januar 1969 (BGBI. I, S. 77) wurde eine neue gesetzliche Grundlage für die Bekämpfung der Papageienkrankheit bei den Papageien und Sittichen geschaffen und somit das eigenständige Gesetz aus dem Jahr 1934 auch in seinem restlichen Teil aufgehoben.

Die Möglichkeit einer erfolgversprechenden prophylaktischen Behandlung importierter Psittaciden mit Antibiotika ließ 1965 die Einfuhr von Psittaciden wieder zu (GEISLER et al., 1970). In der Psittakose-Verordnung zum Schutz gegen die Psittakose und Ornithose vom 9. Juli 1970 (BGBI. I, S. 1055) wurde diesen Erkenntnissen Rechnung getragen.

2.1.2.2. Derzeit gültige Vorschriften

Die Grundlage für die Bekämpfung der Psittakose bei Papageien und Sittichen bildet das Viehseuchengesetz in der Fassung vom 23. Februar 1977 (BGBI. I, S. 313). In diesem Gesetz wird im § 10, Abs. 1, Nr. 17 die Anzeigepflicht für Psittakose geregelt.

Die Ornithose bei allen übrigen Tieren ist aufgrund der nach § 10, Abs. 2 und § 78a des Viehseuchengesetzes erlassenen Verordnung über meldepflichtige Tierkrankheiten vom 19. April 1970 (BGBI. I, S. 443) und der letzten

Änderung vom 18. November 1976 (BGBl. I, S. 3197) nach § 1 Abs. 1, Nr.11 meldepflichtig.

Die Seuchenbekämpfung beim Menschen wird durch das Bundesseuchengesetz vom 18. Juli 1961 und dessen letzter Änderung vom 9. Juni 1975 (BGBl. I S. 1321) geregelt. Im Gegensatz zum Viehseuchengesetz werden hier sowohl die "Psittakose" als auch die "übrigen Formen" erfaßt. Danach ist jeder Fall einer Erkrankung, des Verdachtes einer Erkrankung und eines Todes an Ornithose (Psittakose und übrige Formen) meldepflichtig.

Die Einzelheiten des tierseuchenrechtlichen Vorgehens bei Psittakose/ Ornithose werden in der Verordnung zum Schutz gegen die Psittakose und Ornithose (Psittakose-Verordnung) vom 18. Juni 1975 (BGBl. I, S. 1429) festgelegt, während die Einfuhr durch die Verordnung über die Einfuhr und Durchfuhr von Papageien und Sittichen (Papageien-Einfuhrverordnung) vom 3. März 1975 (BGBl. I, S. 653) geregelt ist.

Das Bayerische Staatsministerium des Innern bestimmt in einem nicht veröffentlichten Schreiben an die Regierungen vom 21.8.1975 den Vollzug der Verordnung vom 3. März 1975 (WOLFF, 1967), indem es den Betrieb der Quarantänestationen, die Chlortetracyclinbehandlung und die Behandlungskontrolle, die im Abschnitt "2.1.6. Behandlungsmethoden" näher aufgeführt werden, vorschreibt.

2.1.3. Epizootologie

Die Papageienkrankheit ist eine jahreszeitlich und klimatisch unabhängige Infektionskrankheit der Wild- und Ziervögel, für die auch der Mensch und weitere 16 Säugerarten nachweislich empfänglich sind (ROLLE und MAYR, 1966; STORZ, 1971; LOTHGEN, 1972; BÜSEL und HARTUNG, 1975). Bisher konnte der Erreger bei 137 Vogelarten nachgewiesen werden. Träger dieser Seuche können nicht nur alle in Deutschland gehaltenen Ziervögel sondern auch das Nutzgeflügel wie Tauben, Enten, Puten, Hühner und Gänse sein (GEISSLER et al., 1970).

2.1.3.1. Erregerübertragung bei Vögeln

Bei den Vögeln wird sowohl die vertikale als auch die horizontale Übertragung des Erregers diskutiert (BORKI, 1970). Ob eine Übertragung durch das Ei gegeben ist, kann nicht allgemein gesagt werden. Während FRITZSCHE et al. (1956) dies bei Tauben verneinen, konnte LEHNERT (1962) und ROFFLE (1962) durch Erregerisolierung bei Stock- und Hausenten eine Übertragung über das Ei als möglich nachweisen. Bei der horizontalen Verbreitung werden die Erreger von den infizierten Tieren über die Schleimhäute abgegeben und gelangen mit Kot, Urin oder Augensekret in die Umwelt (MAYR, 1958). Nach Antrocknen dieser Ausscheidungsprodukte kann es durch Flügelschlagen und durch Luftbewegung zu einer aerosolen Verteilung kommen. Dieser feinst verteilte Staub stellt das Vehikel für die Erreger zur Infektion durch Inhalation dar. Auch durch Abfallprodukte der Geflügelschlachtung wie Federn und Exkremente kann eine Infektion über die Luftwege erfolgen (ORTEL, 1960). Eine perorale Infektion für Jungtiere soll durch ihre infizierten Mütter möglich sein (MAYR, 1958).

2.1.3.2. Natürliche Infektion von Haussäugetern

Über die epizootologische Beziehung zwischen Chlamydien infizierten Vögeln und Haussäugetieren ist wenig bekannt (STORZ, 1971). PAGE und ERICKSON (1969) konnten bei einem hohen Anteil von Vögeln, die mit Chlamydien infizierten Rindern und Schafen engen Kontakt hatten, Chlamydienantikörper nachweisen.

2.1.3.3. Empfängliche Laboratoriumstiere

Alle bekannten Chlamydienstämme vermehren sich in 6 bis 8 Tage alten Hühnerembryonen. Die Empfänglichkeit nimmt jedoch mit dem Alter der Embryonen ab (STEWART, 1962). Bei der gebräuchlichsten Infektionsart, der Dottersackbeimpfung, stirbt der Embryo je nach Infektionsdosis zwischen dem 3. und 14. Tag p.i. (STORZ, 1971). Nach sorgfältiger Adaption an die Chorioallantoismembran bebrüteter Hühnereier können pockenähnliche Veränderungen auftreten. Eine Relation bezüglich der Letalität zwischen den auf der CAM bzw. im Dotter vermehrten Chlamydienstämmen besteht nicht (STORZ, 1971).

Chlamydia psittaci zeigt bei einer Bebrütungstemperatur von 39°C die beste Vermehrungsrate (PAGE, 1965).

Bei der weißen Maus finden drei Infektionsarten Verwendung. GORDON (1930) verwendete die intranasale Inokulation für die Vermehrung und Isolierung von Chlamydien aus von Vögeln stammendem Untersuchungsmaterial. Diese Methode führt bei den Tieren zu typischen Lungenveränderungen, die bei hoch virulenten nach 5 bis 7 Tagen und bei weniger virulenten Stämmen nach 8 bis 14 Tagen den Tod nach sich ziehen (STORZ, 1971).

Bei intracerebraler Beimpfung der Mäuse mit *Chlamydia psittaci* Stämmen trat der Tod 5 bis 7 Tage p.i. ein. Eine Meningoencephalitis führte unter tonisch-klonischen Krämpfen zu diesem letalen Ausgang (STORZ, 1971).

Nach intraperitonealer Infektion starben die Mäuse zwischen dem 7. bis 10. Tag p.i. (BORKI, 1970). Bei diesem Infektionsmodus kann es jedoch auch nach einer Genesungszeit von 6 bis 8 Tagen zu einer Restitutio ad integrum kommen (MONREAL, 1960).

Meerschweinchen können ähnlich wie die weiße Maus zur Erregervermehrung bei intraperitonealer Applikation herangezogen werden (STORZ, 1971; ILCHMANN et al., 1975). Sehr häufig liegt bei dieser Art jedoch schon eine latente Chlamydieninfektion vor (MURRAY, 1964; STORZ, 1964 und 1971).

2.1.3.4. Ansteckungsmöglichkeiten für den Menschen

Die Infektionen mit *Chlamydia psittaci* werden auf den Menschen fast ausschließlich von Vögeln übertragen (WIESMANN, 1971). Die meisten Übertragungen kommen durch Inhalation chlamydienhaltigen Staubes zustande, der in den Käfigen oder Ställen infizierter Tiere aufgewirbelt wird oder bei der Arbeit mit Schlachtabfällen entsteht (BEER, 1968; siehe: 2.1.3.1.).

In der Bundesrepublik Deutschland stellen die Psittaciden und unter diesen die Wellensittiche (*Melopsittacus undulatus*), die als Ziervögel in engem Kontakt zum Menschen gehalten werden, die Hauptinfektionsquelle dar (WEYER und LIPPELT, 1956). Deutlich wird dies besonders durch einen Gipfel der Erkrankungsfälle im Januar und Februar, bei denen es sich um das Phänomen der "Geschenkpsittakose" handelt. ANDERS (1962) führte die Ansteckung auf zu Weihnachten verschenkte Ziervögel zurück.

Eine besondere Infektionsmöglichkeit für den Menschen stellen die Tauben dar. MEYER (1965) fand bei 28,7% von 4500 verwilderten Stadt-, bzw. bei 26,3% von 1210 Haustauben komplementbindende Antikörper. Eine Erregerisolierung gelang bei 12,9% von 946 der Stadt-, bzw. 22,7% der Haustauben. Andere Angaben über den Verseuchungsgrad bei Tauben schwanken zwischen 40 und 80% (SCHOOOP, 1969; BÖRKI, 1970; FRITZSCHE, 1964). Trotzdem konnte MONREAL (1959) Erkrankungsfälle verhältnismäßig selten auf einen Kontakt mit Tauben zurückführen, was auf dem häufig inapparenten Verlauf der Infektion beruhen dürfte. So zeigten zwar 17,6% von 131 Seren klinisch gesunder Züchter komplementbindende Antikörper (MOHR, 1955), es wurde aber auch nur in 36,5% von 74 Züchtern, die deutliche Krankheitssymptome aufwiesen, positive Reaktionen festgestellt (FRITZSCHE und HÖRTNER, 1976).

Das Nutzgeflügel wie Enten, Gänse und Puten stellen besonders in den osteuropäischen Staaten eine häufige Infektionsquelle für den Menschen dar. Vermehrt wird von Massenerkrankungen berichtet. Bei einer Psittakoseepidemie in der CSSR erkrankten 1072 Personen, die zu 79% in der Geflügelindustrie und zu 17% in anderen Geflügelbetrieben arbeiteten (BÖRKI, 1970):

Von Laborinfektionen über die Ausscheidung von Chlamydia psittaci mit Urin und Kot intraperitoneal infizierter Mäuse berichtet WEYER (1955).

Kontaktinfektionen zwischen Menschen sind sehr selten und nur von Psittakosepatienten auf das Pflegepersonal denkbar (FORTNER, 1953).

2.1.4. Klinik und Pathologie

2.1.4.1. Vögel

Die Inkubationszeit der Psittakose/Ornithose bei Vögeln schwankt zwischen 5 und 15 Tagen (DORN, 1971). Die Verordnung über die Bestimmung der Fristen nach § 68 des Viehseuchengesetzes vom 1. Oktober 1973 (BGBl. I, S. 1469) gibt eine Ausschußfrist von 100 Tagen an.

Die Krankheitserscheinungen sind uncharakteristisch. Die Klinik gibt keine eindeutigen Anhaltspunkte für das Vorliegen dieser Infektion (ROLLE und

MAYR, 1966; BEER, 1968). Als Symptom treten Schläfrigkeit, Mattigkeit, Appetitlosigkeit, Schüttelfrost, gesträubtes Gefieder, Diarrhoe (BEER, 1968), Rhinitis, Bronchitis und Konjunktivitis (FRITZSCHE, 1956) auf. Nach BORKI (1970) lassen sich die Erscheinungen als Respirationskatarrh und Diarrhoe mit Allgemeinstörungen zusammenfassen. Als Folgeerscheinungen stellen sich rasch Abmagerung, Exsudatansammlungen an den Nasenlöchern, Dyspnoe (WACHENDÜRFER, 1971) und Lähmungen ein, die innerhalb von 1 bis 2 Wochen zum Tode führen können (BEER, 1968).

Bei Psittaciden unterscheidet ANDRIANNE (1954) die seröse oder respiratorische, die digestive und die Mischform, die perakut, akut und chronisch verlaufen können.

Beim Schnupfen der Reisetauben konnten sowohl schwere Bronchitiden und seröse Konjunktivitiden als auch verminderte Flugleistung, Luftsackentzündung, Durchfall und herabgesetzte Fruchtbarkeit festgestellt werden (FRITZSCHE, 1956). Ein latenter Infektionsverlauf, der besonders häufig bei älteren Tieren auftritt, ist bei Enten fast ausschließlich zu beobachten (LEHNERT und HILLE, 1960; LEHNERT, 1962; STORZ, 1971). Jungtiere erkranken vorwiegend unter den Erscheinungen von schlechtem Wachstum, Gleichgewichtsstörungen, Mattigkeit, Lähmungen, wässrigem Durchfall und Kachexie sowie Konjunktivitis und Keratokonjunktivitis (POPOVICI und MAY, 1960; KRIVINKA, 1956). Stressfaktoren, besonders aber Salmonelleninfektionen können den latenten Erreger aktivieren.

Die Infektion bei älteren Hühnern verläuft nach DERZSY (1957) im allgemeinen subklinisch, während bei jungen Hühnern nervöse Erscheinungen und Koordinationsstörungen beobachtet werden (STORZ et al., 1963).

Bei Puten führt die Ornithose-Infektion zu verminderter Futteraufnahme, Durchfall und allgemeiner Schwäche mit Festliegen der Tiere (DORN, 1971).

Das Sektionsbild ist bei allen Vogelarten einheitlich. Am häufigsten beobachtet man eine Beteiligung der serösen Anteile der Körperhöhle und der Luftsäcke, die in einer Trübung (MONREAL, 1958), Ödematisierung (STORZ, 1971), aber auch in einer käsigfibrinösen Entzündung mit dicken Exsudatbelägen bestehen kann (DAVIS und DELAPLANE, 1958). Daneben weisen der Herzbeutel, die serösen Überzüge der Leber und der übrigen Organe der Körperhöhle fibrinöse Entzündungen auf (FRITZSCHE, 1956). Einen wichtigen Hinweis auf Psittakose/Ornithose gibt die Leber-, vor allem aber die bis zur zehnfachen Vergröße-

rung gehende Milzschwellung (FORTNER, 1953; McCLAUSLAND et al., 1972).

Die Leber zeigt häufig einzelne bis zahlreiche, stecknadelkopf- bis hirsekorngroße Nekrosen und Proliferationsherde (MORITSCH und KOVAC, 1956). Safrangelbe Gesamtfärbung und grau-grüne Streifung können miteinander abwechseln (BEER, 1968).

Gewebsnekrosen in der Milz und Bauchspeicheldrüse beschreibt DORN (1971). Bis zu 30% der männlichen Tiere zeigen eine Orchitis und Epididymitis (BEER, 1968).

2.1.4.2. Laboratoriumsmaus

Die Inkubationszeit bei der weißen Maus hängt von der aufgenommenen Erregermenge und dem Infektionsweg ab. Eine aerogene Infektion führte zwischen dem 5. und 8. Tag p.i. zu einer Erkrankung (BOLOTSKIJ, 1969). Der Infektionsmodus bestimmt unterschiedliche Krankheitserscheinungen. So führt die intraperitoneale Verabreichung nach einer Woche zu Fraßunlust, gesträubtem Haarkleid, geschlossenen Augen, aufgetriebenem Leib und stark gekrümmtem Rücken. Der Tod tritt nach einer Krankheitsdauer von 1 bis 3 Tagen ein.

Pathologisch-anatomisch treten ein erweiterter, heller Darm, Schwellung der Leber und Milz, weiße Beläge auf den Organen der Bauchhöhle und ein trübes, fadenziehendes Exsudat zwischen den Eingeweiden in den Vordergrund (FORTNER, 1953).

Nach intracerebraler Applikation stehen zentralnervöse Störungen im Mittelpunkt des Geschehens. Etwa nach 1 bis 2 Tagen neben Störungen des Allgemeinbefindens wie gesträubtem Fell, Fraßunlust und Gewichtsverlust teilweise zu Manegebewegungen, fast immer aber zu Koordinationsstörungen, Krämpfen und Lähmungen der Hintergliedmaßen. Der Tod tritt zwischen dem 5. und 7. Tag p.i. ein. Ödematöse Schwellungen der Meningen und deutliche Injektion der meningealen Gefäße prägen das pathologisch-anatomische Bild. Histologisch dominiert eine Meningoencephalitis mit mononukleären und polymorphnukleären Infiltrationen (STORZ, 1971).

2.1.4.3. Mensch

Beim Menschen werden Inkubationszeiten von 7 bis 14 (FORTNER, 1953; BORKI, 1970; WIESMANN, 1971) bzw. von 7 bis 28 Tagen (ROLLE und MAYR, 1966) angegeben. Die Erkrankung äußert sich durch Kopfschmerzen, Fieber über 40°C und allgemeiner Schwäche. Man unterscheidet eine grippale pulmonale, typhöse und encephalitische Verlaufsform (BÜSEL und HARTUNG, 1975).

Beim grippalen Verlauf treten Stechen in der Brust, schmerzhafter Reizhusten, Kreuz- und Gliederschmerzen, Schweißausbrüche, Inappetenz und Abgeschlagenheit auf (BEER, 1968).

Die pulmonale Form wird durch röntgenologisch feststellbare, atypische Pneumonien mit beidseitig auftretenden dichten Infiltrationen und Pleura- veränderungen geprägt (NIEDEREHE, 1956; GNEUSS und KOITZSCH, 1961; BEER, 1968). Als Komplikationen kommen häufig toxische Herz- und Kreislauf- störungen hinzu (BEER, 1968).

Bei der seltenen encephalitischen Form stehen Schlaf-, Seh- und Gehstörungen, Tremor und Krämpfe im Vordergrund der Erkrankung (BÜSEL und HARTUNG, 1975).

Die Auffassung, der Schweregrad der Erkrankung werde durch die Herkunft des Erregers von Psittaciden oder von Nichtpsittaciden bestimmt, ist umstritten. So beschreibt WIESMANN (1971) bei Infektionen durch Puten und Hühner schwere Krankheitsbilder.

Bei Kindern tritt in der Regel eine inapparente Verlaufsform auf, während dies bei Erwachsenen die Ausnahme ist (GERLACH, 1936; MEYER und EDDIE, 1951).

Das pathologisch-anatomische Bild zeigt neben einer Bronchitis (BEER, 1968) die Stadien der fibrinösen Pneumonie mit Exsudatbildung, Hämorrhagien, Nekrosen der Alveolarwände, Fibrinablagerungen und Infiltrationen (WIESMANN, 1971). Es werden trübe Schwellung aller Organe und häufig herdförmige Nekrosen in der Leber beobachtet (BEER, 1968).

2.1.5. Immunität

2.1.5.1. Physiologische Immunantwort

Neben unspezifischen zellulären und humoralen Abwehrmechanismen im Rahmen der unspezifischen Resistenz treten immunbiologische Reaktionen im Organismus nur im Zustand einer spezifisch veränderten Reaktionsfähigkeit auf. Kommt es zu dieser Reaktion, so ist sie durch die Bildung von Antikörpern und Immunzellen gegen ein spezifisches, eingedrungenes Antigen gekennzeichnet und führt im physiologischen Fall zur Ausbildung einer Immunität (SCHLIESSER, 1972).

Die Bildung der Immunglobuline findet in den lymphatischen Geweben wie Lymphknoten und Milz, den lympho-epithelialen Organen wie Tonsillen und Peyerschen Platten und unter besonderen Umständen im Knochenmark statt. Der Thymus nimmt nicht unmittelbar an den immunologischen Reaktionen teil (BRANDIS, 1975).

Während bei intravenöser Applikation des Antigens die Antikörperbildung hauptsächlich in der Milz, in der Lunge und im Knochenmark stattfindet, stellen nach lokaler Infektion oder subkutaner Applikation die regionalen Lymphknoten die Hauptbildungsstätten für die Antikörper dar (HUMPHREY und WHITE, 1971).

Bei Vögeln nehmen der Thymus und die Bursa fabricii eine besondere Stellung ein, da diese Organe nicht direkt aktiv an der Antikörperproduktion beteiligt sind, sondern Zellen für die Besiedlung der anderen lymphatischen Einrichtungen abgeben (HUMPHREY und WHITE, 1971). Die Immunglobulinsynthese wird hauptsächlich durch die Lymphozyten und die Plasmazellen durchgeführt (SCHLIESSER, 1972; BURNET, 1973). Erreicht ein Antigen das lymphatische Organ, so werden kleine Lymphozyten zu immunkompetenten Zellen aktiviert, die sich zu unreifen Plasmazellen transformieren. Es kommt zur plasmazellulären Reaktion (BRANDIS, 1975). Große Gewebslymphozyten (Hämozytoblasten) gelten als Vorläufer der Plasmablasten und Plasmazellen. Von den Plasmazellen unreifer oder reifer Art werden hauptsächlich IgG-Antikörper und von den lymphozytoiden, mononukleären Zellen IgM-Antikörper ins Blut abgegeben (SCHLIESSER, 1972; BURNET, 1973).

2.1.5.2. Immunitätsbildung nach Chlamydia psittaci Infektionen

Über die Ausbildung einer Immunität nach Infektionen mit Chlamydia psittaci liegen keine Erkenntnisse vor, die absolute Aussagen rechtfertigen. Allgemein wird als Grundlage der spezifischen Resistenz gegen Chlamydieninfektionen eine Infektionsimmunität angenommen. Bei Vögeln führt die Genesung von einer Infektion zu einer "infectious immunity" (STORZ, 1971).

MEYER und EDDIE (1962a) zeigen, daß einer latenten Infektion eine unvollkommene "autosterilization" folgt, was eine wesentliche Auswirkung auf die Immunitätsausbildung haben könnte. Sie stellten fest, daß Vögel, die den Erreger vollkommen eliminiert hatten oder nach einer Chlortetracyclinbehandlung von Chlamydien befreit worden waren, eine höhere Widerstandskraft gegen eine Testinfektion aufwiesen als Tiere mit latenten Infektionen.

Die Rolle der Antikörperbildung und die Bedeutung der Phagozytose als Teil der funktionierenden Immunitätsmechanismen innerhalb der spezifischen Resistenz sind wenig untersucht (STORZ, 1971).

MEYER (1941) betont die Wichtigkeit der phagozytierenden Zellen und der Monozyten bei der Resistenz gegenüber Chlamydieninfektionen. Er beobachtete, daß der Erregerabbau im Beisein von phagozytierenden Zellen des Epitheloidtyps schneller verläuft. Diese Untersuchungen werden von BENEDICT (1958) und DROBYSHEVSKAYA et al. (1962) im einzelnen bestätigt, jedoch wurde der Prozeß der Phagozytose, der zur Inaktivierung der Chlamydien führt, noch nicht aufgeklärt (STORZ, 1971).

Der Mensch erweist sich nach einer überstandenen Erkrankung zeitweise als immun (FORTNER, 1938). MILEK und GRANTOVA (1966) stellten jedoch bei 86 Personen innerhalb von 6 Jahren 136 Reinfektionen fest. Einzelne Patienten erkrankten bis zu siebenmal.

In der Praxis lassen sich am einfachsten und zuverlässigsten gruppenspezifische komplementbindende Antikörper nachweisen. Die KBR deckt bei einer akuten Infektion die ersten Antikörper nach 7 bis 10 Tagen auf. Abhängig von dem Erregerstamm und von der Intensität der Infektion wird mit 30 Tagen

der maximale Titer erreicht. Er nimmt über eine Zeit von mehreren Monaten wieder ab (STORZ, 1971).

Die Titer werden bei den verschiedenen Autoren unterschiedlich interpretiert. LIPPELT (zit. nach WEYER, 1964) bewertet KBR-Titer von 1:32 als positiv, während BECK und JÖSTEL (1970) Titer ab 1:64 als positiv und 1:32 als fraglich einstufen. LIPPELT und BRAND (1955) betonen, daß unspezifische Reaktionen im Höchsthalle bis 1:32 auftreten. In neueren Untersuchungen bewerten FRITZSCHE und HORTNER (1976) KBR-Titer von 1:10 als negativ, bis 1:20 als verdächtig und ab 1:40 als positiv.

Vakzinationsversuche mit Formalin inaktivierten Erregern erzeugten bei Vögeln keinen ausreichenden Schutz gegen eine Testinfektion (MEYER und EDDIE, 1962a).

2.1.6. Behandlungsmethoden

Tetracyclin und Chloramphenicol hemmen die Vermehrung der Chlamydien und stellen die Mittel der Wahl für die Behandlung einer Psittakose/Ornithose-Infektion dar. Die wirkungsvollste Therapie ist mit Chlortetracyclin zu erreichen (STORZ, 1971; WACHENDÜRFER, 1971).

2.1.6.1. Behandlungssysteme bei Psittaciden

2.1.6.1.1. Gesetzlich vorgeschriebene Behandlungsmaßnahmen

Die Behandlung der Psittakose/Ornithose der Vögel ist durch Gesetze und Verordnungen im einzelnen reglementiert (siehe dazu auch 2.1.2.2.). Für Papageien und Sittiche (ausgenommen Wellensittiche) wird eine Behandlung für eine Dauer von 45 Tagen ohne Intervall mit 5 mg Chlortetracyclin pro Gramm Futter (5 000 ppm) vorgeschrieben. Bei Wellensittichen ist die Behandlung 30 Tage ohne Intervall mit 0,5 mg Chlortetracyclin pro Gramm Futter (500 ppm) durchzuführen.

Für einzelne Arten und Gattungen von Vögeln sind je nach ihrer Freßgewohnheit verschiedene Arzneispezialitäten vorgesehen.

Die körnerfressenden Papageien und Sittiche sind mit "Psittacin"¹⁾ bzw. "Psittavit"²⁾ zu behandeln. Beide Medizinalfutter sind pelletiertes Alleinfutter, das 5,0 mg Chlortetracyclin pro Gramm enthält.

Für alle nicht speziell aufgeführten Papageien und Sittiche (außer für Wellensittiche) gilt das Fütterungsantibiotikum "Aureomycin-Chlortetracyclin Mix 66"³⁾.

Die überwiegend Weichfutter aufnehmenden Gattungen sind täglich mit frisch zubereitetem Mischfutter aus Reis, Getreide und Erdnußschrot, das 3 g "Aureomycin-Chlortetracyclin Mix 66"³⁾ pro 100 g enthält, zu füttern.

Für körnerfressende Gattungen kann als Grundfutter das Sämerei-Eier-Biskuit-Produkt "Cede-Eifutter"⁴⁾ verwendet werden.

Früchte fressenden Gattungen und Nektar fressenden Arten wird das "Aureomycin-Chlortetracyclin Mix 66" in den oben beschriebenen Mengenverhältnissen den zerkleinerten Früchten bzw. dem Honig beigemischt.

Für Wellensittiche ist das Alleinfutter aus geschälter Hirse "Dr. Martens' Avicur"¹⁾ mit 0,5 mg Chlortetracyclin pro Gramm Futter (500 ppm) vorgeschrieben.

2.1.6.1.2. Behandlungskontrolle

Neben der Untersuchung von Blutproben auf ausreichende therapeutische Antibiotikumspiegel während der Behandlung wird außerdem die Untersuchung von Tier- und Kotproben auf das Freisein von Erregern der Psittakose nach Abschluß der Behandlung vorgeschrieben. Zusätzlich kann der Chlortetracyclinegehalt des Medizinalfutters kontrolliert werden.

1) Hersteller: Oberhausener Kraftfutterwerk, Wilhelm Hoppermann

2) Hersteller: Firma Karl Claus, Limburgerhof/Pfalz

3) Hersteller: Firma Lederle/Cyanamid GmbH München

4) Hersteller: Vogelvoeder, Tilburg/Niederlande

2.1.6.1.2.1. Wissenschaftliche Grundlage

Diese Behandlungs- und Kontrollverfahren haben ihre Grundlage in den von K.F. MEYER und Mitarbeitern in den 50-iger und 60-iger Jahren in den USA durchgeführten Untersuchungen. Durch eine längere, orale Chemotherapie über Zumischen von Chlortetracyclinen zum Futter konnte eine Unterbrechung der Infektionskette der Psittakose erreicht werden (MEYER, 1962). Medizinalfutter verschiedener Beschaffenheit, an die unterschiedlichen Freßgewohnheiten angepaßt, wurden entwickelt (BROQUIST und KOHLER, 1954; MEYER et al., 1958; MEYER, 1962; ARNSTEIN et al., 1969).

Anfangs ließen wenig erfolgreiche Chlortetracyclin-Behandlungsversuche bei künstlich mit Psittakose infizierten Sittichen Zweifel am Wert einer antimikrobiellen Therapie aufkommen. Ein besonderes Problem stellten die latent infizierten Vögel dar (QUAN et al., 1950). Erst Untersuchungen von GOGOLAK und WEISS (1950), die nachwiesen, daß Chlortetracyclin das Wachstum der Erreger der Psittakose-Lymphogranuloma Gruppe unterdrückt und die Teilung der Initialkörper verhindert, wie auch Behandlungserfolge mit hohen Dosen bei künstlich infizierten Mäusen (SCHMIDT und v. SPROCKHOFF, 1953), ließen die Hoffnung aufkommen, durch dieses Antibiotikum eine Eliminierung des Erregers bei latenten Trägern wie auch bei akut erkrankten Tieren zu erreichen. Spektakuläre Erfolge bei der Therapie der Psittakose mit Chlortetracyclin auf humanmedizinischem Sektor konnten BERGDORF und BRINKMANN (1954) und STROBEL (1954) aufweisen.

Eine befriedigende Prophylaxe und Therapie der Psittakose/Ornithose mit Chlortetracyclin ließen sich sowohl nach parenteraler Gabe als auch nach Verabreichung über das Futter aber erst nach einer 30 und 45 Tage dauernden Behandlung erzielen. Beide Applikationsarten wiesen in Labor- und Feldversuchen den gleichen therapeutischen Effekt auf (MEYER und EDDIE, 1955; MEYER et al., 1958; BUSSEL und POLIARO, 1958; MEYER, 1962; ARNSTEIN et al., 1968). Bei Massenimporten von Sittichen und Papageien erwies sich aber die orale Applikation als vorteilhafter und wirtschaftlicher. Mißerfolge konnten auf zu niedrige Dosierung und zu kurze Behandlungsdauer zurückgeführt werden (MEYER und EDDIE, 1955).

Durch die Bestimmung der Konzentration des Chlortetracyclins im Blutserum bzw. in Organen konnte die CTC-Aufnahme während und nach der Behandlung überprüft werden (BROQUIST und KOHLER, 1954; MEYER, 1962; KLEIKAMP, 1963; ARNSTEIN et al., 1969). Durch geeignete Futtermischungen und ausreichende Therapiedauer wurden Blutspiegel von 1,1 mcg bis 10,0 mcg CTC pro ml Blutserum erreicht (ARNSTEIN et al., 1968). Als therapeutisch wirksam erwiesen sich allgemein Blutspiegel ab 1 mcg/ml (WACHENDÖRFER, 1969; TEICHMANN, 1976). ZEH (1976) war jedoch auch mit einem Blutspiegel von nur 0,1 bis 0,3 mcg CTC/ml erfolgreich.

2.1.6.1.2.2. Diskussion über Behandlungs- und Kontrollmaßnahmen in der Bundesrepublik Deutschland

Auf Anregung von C. Schultz wurde in Gießen unter Roots, von Nitzschke und Kleikamp ein deutsches Medizinalfutter geprüft, um die von K.F. Meyer in den USA ermittelten Erkenntnisse auf die Gegebenheiten der Bundesrepublik Deutschland zu übertragen (WACHENDÖRFER, 1969).

Mit der Entwicklung des Präparates "Dr. Martens'Avicur" zur Behandlung der Wellensittiche und des "Aureomycin-Chlortetracyclin Mix 66" für die übrigen Psittaciden waren Medizinalfuttermittel im Handel, die ausreichende Chlortetracyclin (CTC)-Blutspiegel über die Fütterung erwarten ließen (WACHENDÖRFER, 1970). Anfangs konnte durch Anwendung des Prämix-Präparates (Aureomycin-Chlortetracyclin Mix 66) eine Unterdosierung nicht immer ausgeschlossen werden. Durch Pelletierung wurde ein geeignetes Medizinalfutter für die meisten körnerfressenden größeren Sittiche und Papageien und 18 weitere Spezies der Gattung Agapornis, Amazonas, Myopsitta, Platycerus, Poicephalus und Psittacula geschaffen. Auch für weichfutter-, honig- bzw. nektarfressende Arten wurden entsprechende Medizinalfutter entwickelt (WACHENDÖRFER et al., 1973). Eine Unterdosierung durch mangelnde Futteraufnahme besonders bei akutem Krankheitsgeschehen sollte nach WACHENDÖRFER (1972) durch eine bis zu fünf Tagen dauernde parenterale CTC-Therapie vermieden werden. Danach kann auf eine erfolgversprechende Fütterungstherapie umgestellt werden. Die in der Verordnung vom 9. Juli 1970 (BGBl. I, S. 1055) aufgeführten Präparate beurteilt WACHENDÖRFER (1970) als so wirksam, daß sie ihren Einsatz in den Bekämpfungsmaßnahmen der Psittakose rechtfertigen.

Als zwingend notwendig sieht WACHENDÖRFER (1971) die Behandlungskontrolle vornehmlich in Quarantänestationen mittels CTC-Blutspiegelbestimmung an. Diesem Verfahren sollte eine vorrangige Bedeutung zukommen, da der Erregernachweis mittels Tierversuch wegen diskontinuierlicher Keimausscheidung bei den Vögeln nur begrenzten diagnostischen Aussagewert besitzt (WACHENDÖRFER, 1968 und 1972). Auch sei diese Methode (WACHENDÖRFER, 1973a) dem Isolationsversuch deshalb vorzuziehen, da sie mehr Information über die Effektivität der Behandlung gebe. Damit sei sie als einzige Alternativuntersuchung unter Verzicht auf die Erregerisolierung aus den Kotproben bundeseinheitlich vorzuschreiben (WACHENDÖRFER, 1974).

Untersuchungen von MARCUS und REHMANN (1971) zeigen, daß die von Wachendörfer beschriebene Methode der CTC-Blutspiegelbestimmung besonders im Hinblick auf die Blutentnahme bei den Vögeln gut durchführbar ist. HAASS (1973) hingegen gibt zu bedenken, daß die Entnahme nur mit Hilfspersonal vorgenommen werden können und somit eine unvermutete Probenentnahme häufig nicht möglich sei. Eine Manipulation der Antibiotikum-Blutspiegelkonzentration durch kurzfristige, parenterale CTC-Injektionen kann also nicht ausgeschlossen werden.

Zwar wurden bei den oben beschriebenen Behandlungen ausreichende CTC-Blutkonzentrationen bei Papageien (MARCUS und REHMANN, 1971) bzw. bei Wellensittichen (LOTHGEN et al., 1973) erreicht, doch bei Agaporniden (MARCUS und REHMANN, 1971) und Nymphensittichen (ZEH, 1976; TEICHMANN, 1976) blieben diese häufig unter den als therapeutisch anzusehenden Mindestwert von 1,0 mcg/ml.

Die Untersuchungen von ZEH (1976) zeigten aber, daß auch ein als subtherapeutisch anzusehender Blutspiegel von nur 0,1 bis 0,3 mcg CTC/ml Blut ausreichen kann, den Erreger zu eliminieren, während bei latent infizierten Nymphensittichen parenterale Tetracyclingaben auch nach Erreichen eines genügend hohen Blutspiegels von 2,5 mcg/ml weder die Morbidität noch die Mortalität beeinflussen können.

Auch wegen möglicher Resistenzentwicklung einzelner Chlamydienstämme (WACHENDÜRFER et al., 1973) würden bei alleiniger CTC-Blutspiegelbestimmung Erreger ausscheidende Tiere, die nach WACHENDÜRFER (1969) epidemiologisch und epizootologisch von Bedeutung sind, nicht erfaßt. Die Untersuchung der CTC-Blutkonzentration hat zwar einen hohen Aus-sagewert über die Durchführung der Behandlung, nicht aber unbedingt auch über deren Wirksamkeit (HAASS, 1973).

2.1.6.2. Behandlung von sonstigen Vögeln

Die Behandlung von anderen Vögeln insbesondere von Geflügel einschließ-lich Tauben wird rechtlich so geregelt, daß entsprechende Maßnahmen wie bei der Psittakose getroffen werden können (siehe: 2.1.2.2.).

ARNSTEIN et al. (1964) hatten Chlortetracyclin-Fütterungsversuche durch-geführt und festgestellt, daß auch bei Tauben ein Blutspiegel von 2 mcg bis 4 mcg CTC/ml nach 25 Behandlungstagen zu erreichen ist.

Das Aureomycinkonzentrat V, in pelletiertem Futter als Trägerstoff verabreicht, eignet sich nach LOTHGEN (1972a) am besten. Wichtige Voraus-setzung für eine erfolgreiche Therapie ist jedoch das Nichtanbieten von calciumhaltigen Futterzusätzen wie Taubensteinen und Muschelgrit, da bei der Resorption im Darm eine Konkurrenz zwischen dem Calciumcarbonat und den Tetracyclinen besteht. Eine gleichzeitige Verfütterung von Futter-calcium und Chlortetracyclin kann einen ausreichenden Antibiotikumblut-spiegel verhindern, während Natriumsulfat zugesetzt, das das Calcium neutralisiert, und Terephthalsäure und einige ihrer Salze, die eine Ver-minderung der renalen Ausscheidung bewirken, sich als günstig erweisen (ZUCKER, 1964; ONDERSCHEKA und JAKSCH, 1965; LOTHGEN, 1972; LOTHGEN, 1974).

2.1.6.3. Behandlung beim Menschen

Beim Menschen ist ebenfalls die Tetracyclintherapie bei der Ornithose angezeigt (WIESMANN, 1971). Wichtig ist auch hier ein frühzeitiger Be-handlungsbeginn und eine genügend lange Verabreichung des Medikamentes, um Rückfälle zu vermeiden (WEYER, 1959 und 1964). Wirksames Mittel ist z.B. das "Aureomycin".

2.2. Chlamydia psittaci

2.2.1. Klassifizierung

Die Art *Chlamydia psittaci* wird zur Gattung *Chlamydia* der Familie Chlamydiaceae gezählt. Diese Familie gehört als einzige zur Ordnung der Chlamydiales, die mit der Ordnung Rickettsiales zu den Rickettsias zusammengefaßt werden (MOULDER, 1974; PAGE, 1974).

Die Chlamydien nehmen eine Mittelstellung zwischen Bakterien und Viren ein, da ihre Vermehrung zellgebunden ist, sie über eine Zellmembran verfügen, auf Antibiotika ansprechen und sowohl RNS als auch DNS besitzen (WIESMANN, 1971). Systematisch werden sie somit nach "Bergey's Manual of Determinative Bacteriology" den Bakterien zugeordnet (PAGE, 1974).

2.2.2. Aufbau, Formen und Abgrenzung zu Bakterien und Rickettsien

Die Chlamydien sind unbewegliche, rund-ovale Mikroorganismen, die sowohl Ribo- als auch Desoxiribonukleinsäure besitzen. Die begrenzende Membran ist von komplexer Zusammensetzung. Sie enthält ähnlich wie die Zellwand der gram-negativen Bakterien Muraminsäure (STORZ, 1971; WIESMANN, 1971; PAGE, 1974).

Die Größe der Chlamydien ist vom Entwicklungsstadium abhängig. STORZ (1971) gibt für die infektiösen Formen 200-300 nm und für die nicht oder nur gering infektiösen Formen 1000 nm als Durchmesser an. Der Entwicklungszyklus der Chlamydien weist keine Parallelen zu anderen bakteriellen Erregern auf (MOULDER, 1964). Es entstehen unterschiedlich große Elementarkörperchen. Die kleinen 200-400 nm messenden Ausgangsformen der Entwicklung bezeichnet PAGE (1974) als "elementary bodies". Sie beinhalten einen Kern und zahlreiche Ribosomen, die von einer mehrschichtigen Membran umgeben sind. Die großen 800-1500 nm messenden Formen, "initial bodies", werden von einer dünnen Membran umgeben und enthalten netzförmig unterteilte Kernfibrillen und ribosomale Elemente. Zwischen den "elementary bodies" und den "initial bodies" verkörpern die sogenannten "intermediate bodies" die Übergangsformen.

Während die "elementary bodies" die infektiöse Form darstellen, sind die "initial bodies" als vegetative Form zu verstehen. Letztere können sich jedoch intrazellulär zerteilen und nach Ausschleusung Infektiosität zeigen (PAGE, 1974). Grundlegende Unterschiede zwischen den Rickettsien und den Chlamydien hat WEISS (1968) festgestellt. Rickettsien besitzen Cytochrome, ihre metabolischen Reaktionen laufen aerob ab und erzeugen Adenosintri-phosphat. Bei Chlamydien konnte er keine Cytochrome nachweisen. Auch verlaufen die metabolischen Reaktionen essentiell anaerob.

2.2.3. Tenazität

Gegenüber physikalischen, chemischen und Umwelteinflüssen sind Chlamydien wenig resistent (WIESMANN, 1971).

Durch ultraviolettes Licht verlieren die Chlamydien nach 3 Minuten ihre Infektiosität. Bei 56°C werden sie in 5 Minuten inaktiviert. Alkohol, Äther, Säure, Basen und Desinfektionsmittel wie Phenol, Chloramin, Formalin und Lysollösung töten die Erreger je nach Konzentration in 30 Minuten bis 3 Stunden ab (BOLOTOVKIJ, 1959; STORZ, 1971). In Leitungswasser und im Wasser eines Swimming-pools dagegen blieb die Infektiosität 2 bis 3 Tage erhalten (STORZ, 1971).

Zur Konservierung eignet sich die Lagerung bei tiefen Temperaturen. STORZ (1971) konnte Chlamydienstämme bei -70°C ohne Infektiositätsverlust fast unbegrenzt aufbewahren.

Eine Lyophilisierung und anschließende Lagerung bei -15°C ist ebenfalls geeignet (SCHMITTDIEL, 1961). Dagegen sind Erreger in infizierten Organen nur 2 Monate bei +4°C infektionstüchtig (WEYER und LIPPELT, 1956).

2.2.4. Entwicklungszyklus

Die Chlamydien werden in der Form der Elementarkörperchen, "elementary bodies", durch die Wirtszelle nach einer Kontaktphase mit der Zellmembran durch Invagination in das Zytoplasma phagozytiert. Dabei werden sie von einer Hülle umgeben, die sich von der Zellmembran der Wirtszelle herleitet, und in einer Zytoplasmablase gelagert. In dieser Blase erfolgt die Ver-

mehrung durch Zweiteilung. Es entstehen die großen, nicht infektiösen Rétikularformen, die "initial bodies". In einem zweiten Reifungsprozeß bilden sich die dichtzentrierten, kleinen Zwischenformen aus, die dann Infektiosität annehmen. Diese sind nach Verlassen der Wirtszelle voll infektionstüchtig und in der Lage, neue Zellen zu infizieren (LITWIN, 1959; LITWIN et al., 1961; MOULDER, 1964 und 1969; HIGASHI, 1964; STORZ, 1971; PAGE, 1974).

Die Phagozytose mehrerer "elementary bodies" zu unterschiedlichen Zeiten kann dazu führen, daß gleichzeitig verschieden entwickelte Chlamydienkolonien im Zytoplasma der Wirtszelle zu finden sind (PAGE, 1974).

Die Angaben über die Dauer des Wachstums, der Vermehrung und Reifung der Chlamydien sind unterschiedlich. Nach Mitteilungen von STORZ (1971) sind die ersten 500-800 nm großen Retikularformen 12 Stunden p.i. nachweisbar. Die kleinen, sich nicht mehr teilenden, dicht zentrierten "intermediate bodies" tauchen um die 20. Stunde p.i. erstmals auf und erreichen bis zur 30. Stunde einen Anteil von mehr als 50 Prozent. Bis zur 40. Stunde p.i., dem Zeitpunkt der Ausschleusung und der möglichen Neuinfektion anderer Zellen, nimmt ihr Anteil ständig zu. Während PAGE (1974) auch eine Entwicklungszeit von 40 Stunden angibt, stellten MIELDS et al. (1974) bei der Darstellung des Entwicklungszyklus von *Chlamydia psittaci* in Peritonealmakrophagen infizierter Mäuse mittel Immunperoxidase-Methode eine Zeit von 6 Tagen von der Infektion bis zum Auseinanderbrechen der kugelförmigen Mikrokolonien fest. Bis heute ist eine extrazelluläre Vermehrung der Chlamydien nicht gelungen (PAGE, 1974).

2.2.5. Wachstum in Zellkulturen

Erste umfangreiche Studien über das Wachstum des "Psittakose-Virus" in Hühnerembryofibroblastenzellkulturen (FHE) bzw. in L-Zellen gelangten MORGAN (1956), (McCLOSKEY und MORGAN, 1961).

STORZ (1971) gibt einen Überblick über verschiedene Zellsysteme, in denen die verschiedenen Chlamydienarten gezüchtet werden können. Die wichtigsten sind Hühnerembryofibroblasten-, L-, McCoy-, Chang's human liver- und die HeLa-Zellen (OFFICER und BROWN, 1960 und 1961). Auch in Zellkulturen von wechselwarmen Tieren konnte bei +20°C eine Vermehrung von

Chlamydia psittaci beobachtet werden (SHINDAROV, et al., 1971). Die Ausbildung eines zytopathogenen Effekts ist vom Chlamydienstamm und vom Zellsystem abhängig (HIGASHI et al., 1959; LASALLE, 1964). In den infizierten Zellen lassen sich die Chlamydien mit den üblichen Färbemethoden darstellen.

2.2.6. Möglichkeiten des Nachweises

Beim Nachweis der Chlamydien werden die frühen Entwicklungsformen der Elementarkörperchen und die zytoplasmatischen Einschlüsse durch Färbung dargestellt. Es finden dabei Methoden von GIMENEZ (1964), Macchiavello, Giemsa (STORZ, 1971; PAGE, 1974), die Acridin-Orange Methode nach STARR et al. (1960) und die Stamp-Färbung (ROLLE und MAYR, 1966) Verwendung.

Die direkte Fluoreszenz-Antikörper-Technik wird von vielen Autoren als spezifischere und schnellere Nachweismethode beschrieben (BUCKLEY et al., 1955; DONALDSON et al., 1958; EUGSTER et al., 1970; STORZ, 1971; KLEIKAMP und SCHAAL, 1972; VESTER et al., 1972; MIELDS, et al., 1974).

Da unspezifische Fluoreszenzen, die besonders beim Mäuseversuch durch Eigenfluoreszenz der Peritonealzellen hervorgerufen werden, die Beurteilung erschweren (KLEIKAMP und SCHAAL, 1972), wendeten MIELDS et al., (1974) die Immunperoxidase-Methode an. Sie zeigten, daß die Ergebnisse dieser Technik mit denen der Immunofluoreszenz vergleichbar sind, das mikroskopische Bild aber eine eindeutigere Beurteilung erlaubt.

Elektronenmikroskopische Untersuchungen von gereinigten Aufbereitungen oder von Dünnschnitten infizierter Organe konnten genauere Informationen über die innere Struktur der Chlamydien in den verschiedenen Entwicklungsstadien geben (STORZ, 1971).

Für den Nachweis ohne Erregeranzüchtung bei verendeten Tieren werden Abklatschpräparate von Leber, Milz, Luftsäcken und den übrigen veränderten Körperteilen verwendet (MONREAL, 1958). Da häufig ein direkter Erregernachweis nicht möglich ist, muß dieser besonders bei der Diagnose am lebenden Tier aus den Se- und Exkreten in einem geeigneten Wirtssystem vermehrt werden.

Folgende 4 Wirtssysteme sind die gebräuchlichsten:

1. Hühnerembryonen bei Beimpfung des Dottersacks,
2. drei Wochen alte Mäuse bei intraperitonealer Inokulation,
3. Meerschweinchen bei intraperitonealer Inokulation und
4. Zellkulturen.

Die Mäuse eignen sich zur Isolierung von Chlamydienstämmen der Vögel, der Chlamydienpneumonie der Maus und der Lymphogranuloma-venereum Gruppe des Menschen. Als Versuchstiere für die Vermehrung bei Trachoma-Stämmen und Chlamydien des Rindes und Schafes sind sie nicht verwendbar (STORZ, 1971). Hier eignen sich die bebrüteten Hühnereier besser.

Die weiße Maus nimmt wegen ihrer leichten Handhabung und Haltung und wegen ihrer Wirtschaftlichkeit gegenüber dem Hühnerei und dem Meerschweinchen besonders bei der Psittakose/Ornithose-Diagnostik eine bevorzugte Stellung ein. Die Zellkultur fand noch keinen Eingang, da sie auf Verunreinigung bakterieller und toxischer Art sehr empfindlich reagiert.

2.2.7. Chemische Substanzen in ihrer Wirkung auf die Chlamydienvermehrung

2.2.7.1. Folsäure

Das Vorkommen von Folsäure in gereinigten Chlamydienaufbereitungen wurde von COLON und MOULDER (1958) zwar bewiesen, aber ihre Funktion im Metabolismus nicht genau geklärt. Man konnte jedoch durch Folsäureanaloge die Vermehrung der Chlamydien verhindern (STORZ, 1971) und damit die Wichtigkeit der Folsäure im Stoffwechsel des Erregers belegen. Ihre Synthese ist ein enzymatischer Prozeß, der endergon verläuft und Adenosintriphosphat benötigt. Innerhalb des Stoffwechsels übernimmt die Folsäure die Funktion eines Coenzym bei der Synthese der Aminosäuren, Purine, Pyrimidine und anderer Bausteine. Diese Vorgänge spielen sich in den stoffwechselaktiven, großen Retikularformen der Chlamydienentwicklung ab. Mittel, die in diesen Prozeß eingreifen, haben chlamydienstatische Wirkung (STORZ, 1971).

2.2.7.2. Antibiotika und Chemotherapeutika

Chlamydien sind gegenüber bestimmten Antibiotika und Chemotherapeutika empfindlich. Manche Mittel haben eine starke, andere eine weniger starke chlamydiostatische Wirkung. Die Vermehrung wird z.B. durch Streptomycin^R, Ristocetin^R, Vancomycin^R, Bacitracin^R und Mycostatin^R nur in so geringem Maße gehemmt, daß sie erfolgreich zur Eliminierung bakterieller Verunreinigungen bei experimentellen Untersuchungen mit Chlamydien eingesetzt werden (GORDON und QUAN, 1962; JENKIN und HUNG, 1967).

Die wirksameren Mittel greifen in den Stoffwechsel der Chlamydien ein. Diese hemmende Wirkung reicht dann zwar meist für therapeutische Zwecke aus, die Infektion aber muß durch die Abwehrkräfte des Organismus überwunden werden.

2.2.7.2.1. Sulfonamide, Penicillin und Antimetaboliten

Die Empfindlichkeit der Chlamydien gegen Sulfonamide läßt eine Einteilung der Erregerstämme in zwei Gruppen zu. Sulfonamide unterbinden den Einbau der p-Aminobenzoesäure in die Folsäure. Daher werden Chlamydienstämme, die Folsäure aus der p-Aminobenzoesäure, Pteridin und Glutamat synthetisieren, durch Sulfonamide in ihrer Vermehrung mehr oder weniger gehemmt, während die Stämme, die Folsäurevorstufen der Wirtszelle verwenden, gegen Sulfonamide resistent sind (GORDON und QUAN, 1962). Unter den getesteten Psittakosestämmen erwies sich lediglich der 6-BC-Stamm als voll gegen Sulfonamide empfindlich (STORZ, 1971).

Penicilline weisen gegenüber Chlamydienstämmen eine unterschiedliche statische Wirkung auf. Untersuchungen von TAMURA und MANIRE (1968) zeigen, daß sie weder in die Reproduktion der netzförmigen Körperchen eingreifen, noch auf die Bildung der Chlamydien Einfluß haben, sondern lediglich die Reifung zu den dicht-zentrierten infektiösen Formen verhindern.

Auch durch D-Cycloserin, ein aus Streptomycinstämmen gewonnenes Antibiotikum, kann die Vermehrung der Erreger beeinträchtigen. Die Hemmwirkung ist jedoch so gering, daß sie durch minimale D-Alanin-Mengen wieder aufgehoben werden kann (MOULDER et al., 1963; STORZ, 1971).

Die Antimetaboliten 5-Fluorouracil, 5-Fluorodeoxyuridin, 5-Fluorodeoxycytidin und Actinomycin D sind der Folsäure chemisch nahe verwandt, verdrängen diese vom Wirkungsort in den Zellen, verhindern die Umwandlung in die eigentlich wirksame Folsäure und verdrängen diese durch Konkurrenz am Wirkungsort von ihrer Funktion bei der Synthese von Nukleinsäuren (KUSCHINSKY und LOLLMANN, 1967). Sie greifen in frühe Stadien des Entwicklungszyklus ein, während sie zu späteren Zeitpunkten keinen Einfluß mehr haben (POLLARD und TANAMI, 1962; TUMARA und IWANAGA, 1965). Aus diesen Erkenntnissen zieht STORZ (1971) den Schluß, daß die Chlamydien entweder die RNS in späten Entwicklungsstadien ohne DNS synthetisieren oder die Antimetaboliten nach einem gewissen Entwicklungszeitpunkt nicht mehr in die Chlamydieneinschlüsse eindringen können.

Auch durch Interferon kann in Kulturzellen in frühen Entwicklungsstadien eine Hemmung des Chlamydienwachstums erreicht werden (SUELTFUESS und POLLARD, 1963).

2.2.7.2.2. Chlortetracyclin und andere die Proteinsynthese beeinflussende Arzneien

Der Wirkungsmechanismus der Antibiotika und Chemotherapeutika Para-Fluorophenylalanin, Tetracyclin und Chloramphenicol beruht in der Hemmung der Proteinsynthese. Diese Stoffe haben somit statische Wirkung (LIN, 1968; STORZ, 1971).

Die Wirkung des Para-Fluorophenylalanins auf die Vermehrung von Chlamydia psittaci wurde von TANAMI und POLLARD (1962) untersucht. Sie stellten eine Abhängigkeit der Wirksamkeit vom Zeitpunkt ihres Eingreifens in den Entwicklungszyklus fest.

Tetracycline und Chloramphenicol werden von STORZ (1971) als die wirksamsten chlamydiostatischen Mittel angesprochen. Unter diesen weist das Chlortetracyclin eine besonders starke Hemmwirkung auf (LINER et al., 1951). Der Mechanismus ist nicht restlos geklärt; das Chlortetracyclin scheint aber nur zu einem frühen Zeitpunkt des Entwicklungszyklus zu wirken. Das Stadium, in dem es unwirksam wird, konnte jedoch noch nicht bestimmt werden.

Die Antibiotika scheinen störend auf die Reorganisation der infektiösen Chlamydienformen und auf die sich anschließende Teilung einzuwirken. Hierdurch verliert der Erreger seine Infektiosität. Über den Vorgang der Erregerfreisetzung nach Wirkstoffeliminierung liegen noch keine Untersuchungen vor (POLLARD und STARR, 1962).

Das Erythromycin ähnliche Tylosin zeigt nach Untersuchungen von POLLARD und STARR (1962) gleiche hemmende Wirkung innerhalb der Chlamydienvermehrung.

2.2.8. Resistenzentwicklung

Die Entwicklung von antibiotika- und chemotherapeutika-resistenten Chlamydien wird in der Literatur mehrfach beschrieben (MONREAL, 1963). Es wurde von Resistenzentwicklungen gegen Sulfonamide (GOLUB, 1948; GORDON et al., 1960a und 1960b) sowie gegen Penicilline berichtet. (MOULDER et al., 1955; GORDON et al., 1957; GREENLAND, 1961). Dabei handelt es sich um Resistenzentwicklungen einzelner Chlamydienstämme. Bei einem Mäusepneumonitis-Erregerstamm (GREENLAND und MOULDER, 1961) und bei dem Psittakosestamm 6-BC (GORDON et al., 1957) konnte eine Chlortetracyclinresistenz erzeugt werden. Der Mechanismus, der zur Tetracyclinresistenzbildung führt, ist noch nicht geklärt; jedoch können Tetracycline durch Veränderungen an den ribosomalen Bindungsstellen einer Resistenzentwicklung den Weg bereiten (STORZ, 1971). Andererseits hält es STORZ (1971) aber auch für denkbar, daß eine Veränderung in der Permeabilität der Chlamydienmembran eintritt, so daß das Antibiotikum seine Wirkungsstelle nicht mehr erreichen kann.

Bei Resistenzuntersuchungen von 12 Chlamydia psittaci Stämmen stellten WACHENDÖRFER et al. (1973b) bei 5 Stämmen eine volle Empfindlichkeit gegen Chlortetracyclin fest; lediglich bei einem Stamm ließ die Auswertung der Untersuchungsergebnisse eine Teilresistenz erkennen. Die übrigen Stämme wiesen nur eine unterschiedliche Empfindlichkeit auf, so daß die Autoren diese nicht eindeutig einer der beiden Gruppen zuordnen konnten.

2.3. Latenz

2.3.1. Definition

Bei latenten Infektionen verweilt der Erreger an der Eintrittspforte, in den Organen oder Geweben eines lebenden Organismus, ohne seine krankmachende Wirkung zu entfalten. Auch nach der Abheilung einer Infektionskrankheit kann dieser Zustand erhalten bleiben und nach erneutem Überwinden der Abwehrkräfte zu Rezidiven führen (HOFFMANN, 1972).

In der Gruppe der zyklischen Infektionskrankheiten zählt die latente Infektion zu den klinisch inapparenten Verlaufsformen. Im Gegensatz zur subklinischen Infektion, bei der der Wirt durch unspezifische Resistenzmechanismen und durch spezifische Immunitätsvorgänge den Erreger neutralisiert und somit das Infektionsgeschehen zeitlich begrenzt, ist bei der latenten Infektion die Abwehr des Wirtes so gering, daß der Erreger nicht aus dem Körper eliminiert werden kann, sondern sich im Organismus mit eingeschränkter Intensität vermehrt und fortwährend oder periodisch über eine nicht festgelegte Zeit an die Umwelt abgegeben wird (MAYR et al., 1969; MAYR, 1972).

STORZ (1971) definiert die Latenz als ein Gleichgewicht von Erreger und Wirt, bei dem sich das krankmachende Agens im Stadium der potentiellen Virulenz befindet. Bei Störungen dieses Gleichgewichts durch innere oder äußere Faktoren kann aus der Latenz mit ihrem Keimträger- und Ausscheidertum eine klinisch apparente Infektion werden (ROLLE und MAYR, 1966).

Geht dem Stadium der Latenz keine Erkrankung des Wirtes mit diesem Erreger voraus, so spricht man von einer primären Latenz. Verbleibt jedoch auch nach Ablauf der Krankheitserscheinungen der Erreger im Organismus, so liegt eine sekundäre Latenz vor (ROLLE und MAYR, 1966).

2.3.2. Beschriebene Latenzfälle

MEYER und EDDIE (1933 und 1933a) beschrieben Fälle von latenten Infektionen mit Erregern der Papageienkrankheit bei in der Diagnostik der Psittakose eingesetzten Mäusen bzw. Vögeln, die zu Infektionen von Menschen geführt hatten. Auch GERLACH (1936a) berichtet über latente Psittakoseinfektionen.

Bei verschiedenartigen Krankheitsfällen des Menschen konnten interkurrente Psittakoseinfektionen einwandfrei nachgewiesen werden. GERLACH (1936) folgert aus eigenen und aus Beobachtungen von K.F. Meyer, daß nicht jede Infektion des Menschen mit "Psittakosevirus" zu einer schweren, wenn nicht sogar tödlichen Erkrankung führen müsse. Sie schreiben diesem "Virus" eine bemerkenswerte Neigung zur Latenz zu, durch die es unerkannt im Körper verweilen kann. Ausscheider nach "stummer" Infektion konnten ebenfalls beobachtet werden (GERLACH, 1936).

So konnten MEYER und EDDIE (1968) aus dem Sputum eines Menschen, der acht Jahre zuvor schwer an Psittakose erkrankt war, den Erreger isolieren. Auch nach der Genesung wies das Serum unverändert einen positiven Komplementbindungstiter gegen Psittakose von 1:128 bis 1:256 auf. Bei Mäusen soll nach GÜNNERT (1941) und KARR (1943) ein pneumotropes "Virus", das Ähnlichkeit mit dem Erreger des Lymphogranuloma inguinale und der Psittakose aufweist, latent vorgefunden worden sein.

HANNA et al. (1968) betonen das Vorkommen von latenten Infektionen mit Erregern der Psittakose-Lymphogranuloma-Trachoma Gruppe beim Menschen und bei Vögeln.

ZEH (1976) berichtet über Therapieversuche bei einer latent infizierten Nymphensittich-Herde.

2.3.3.-Modelle der latenten Infektion

2.3.3.1. Modell nach Morgan

Untersuchungen von HARE und MORGAN (1954) zeigten, daß Hühnerebryofibroblastenzellen, die in einem Mangelmedium aus anorganischen Salzen und Glucose (Hanks'sche Salzlösung) gehalten werden, ihre Fähigkeit verlieren, das Wachstum des Psittakoseerregers zu unterhalten. Die Erregerproduktion kann aber durch Zugabe verschiedener Nährstoffe wieder aktiviert werden (HEGGIE und MORGAN, 1956; JOHNSON und MORGAN, 1956; BADER und MORGAN, 1958). Die Phase, während der der Erreger über einen Zeitraum von 5 Tagen ohne Beweis einer Vermehrung vorgefunden wurde, legt die Vorstellung einer künstlich erzeugten latenten Infektion nahe.

MORGAN (1956) untersuchte an Hand dieses Modells die Beziehungen des Psittakoseerregers zur Wirtszelle in aktiver und "latenter" Phase. Es gelang ihm, den Erreger über 15 Tage in mit Hanks-BSS ernährten Hühnerembryofibroblastenzellkulturen ohne aktive Vermehrung zu unterhalten.

In diesen mit Chlamydien infizierten Zellen konnte durch Zugabe von Kälberembryoextrakt zu irgendeinem Zeitpunkt zwischen dem 11. und 28. Tag die aktive Vermehrung der Erreger wieder in Gang gesetzt werden. Die Ruhephase entsprach dem Zustand der Latenz bzw. der potenziellen Virulenz (MORGAN, 1956).

2.3.3.2. Modell nach Pollard und Sharon

Die Erkenntnis, daß der Folsäureantagonist Aminopterin bis zur 15. Stunde nach der Infektion die Vermehrung des Erregers in Zellkulturen verhindert, ließ POLLARD und SHARON (1963) das Modell der verlängerten Latenz des Psittakoseerregers schaffen. Durch den Zusatz von Aminopterin zum Nährmedium der Zellkultur erreichten sie, daß der Psittakoseerreger bis zu 4 Wochen latent in den Zellen verweilte, aber nach Zugabe von Folsäure zum Kulturmedium seine Vermehrungsfähigkeit wiedererlangte und seine Reifung von dem Punkt aus vervollständigte, an dem sie gestoppt worden war.

2.4. Immunsuppression

2.3.1. Definition

Unter Immunsuppression versteht man das Treffen von Maßnahmen, die die physiologische Immunantwort eines Organismus unterdrücken. Mit unspezifischen Mitteln erreicht man, "daß entweder die Quellen immunologisch kompetenter Zellen selbst zerstört werden oder daß diese Zellen daran gehindert werden, die Differenzierung und Vermehrung durchzumachen, die zur Entfaltung und Vermehrung ihrer spezifischen immunologischen Kapazität gehört" (HUMPHREY und WHITE, 1971).

Zur Erreichung dieses Zieles geben HUMPHREY und WHITE (1971) und GRUBER (1975) folgende Möglichkeiten an:

- a) Zerstörung der Stammzellen und Lymphozyten durch Letaldosen von Röntgenstrahlen;
- b) neonatale Thymektomie oder Thymektomie des erwachsenen Organismus und subletale Röntgenbestrahlung hauptsächlich zur regelmäßigen Unterdrückung der zellvermittelten Immunität;
- c) bei Vögeln die Bursektomie und subletale Röntgenbestrahlung hauptsächlich zur Verminderung der Antikörperbildung;
- d) Antilymphozytenserum hauptsächlich zur Zerstörung der zirkulierenden langlebigen Lymphozyten;
- e) die Drainage der Ductus thoracicus-Lymphozyten, die eine ähnliche, aber nicht so lang anhaltende Wirkung wie das Antilymphozytenserum hat;
- f) Zerstörung oder Hemmung der Lymphozyten mit großen Dosen von Corticosteroiden;
- g) Zerstörung der Lymphozyten mit subletalen Dosen von Röntgenstrahlen;
- h) Störung der Aufnahme und Speicherung des Immunogens durch Makrophagen;
- i) Antimetaboliten zur Verhinderung der Differenzierung und Vermehrung der Zellen, die für die Immunantwort erforderlich sind, durch Eingriff in die DNS-, RNS- und Proteinsynthese.

2.4.2. Antimetaboliten und ihre Wirkung auf die Immunantwort

Antimetaboliten sind chemische Verbindungen mit ähnlicher Struktur wie die Metaboliten, deren Platz am Enzym sie besetzen können, ohne aber ihre biochemische Funktion zu erfüllen. Sie blockieren die enzymatischen Reaktionen oder sie werden an Stelle des Metaboliten umgesetzt (LANGEN, 1968).

Zu den Antimetaboliten zählen die Purin- und Pyrimidin-Analoga und die Glutamin- und Folsäureantagonisten (DAVIS et al., 1973; LANGEN, 1968; HUMPHREY und WHITE, 1971). Sie wirken in erster Linie auf die Nukleinsäuresynthese von Zellen mit hoher Mitoserate (LANGEN, 1968; BERENBAUM 1964) und schädigen die aktive Teilung und Differenzierung der Zellen, einschließlich derer, die auf eine immunogene Reizung reagieren (DAVIS, et al., 1973).

DAVIS et al. (1973) teilen den zeitlichen Ablauf der Immunantwort auf den immunogenen Reiz in drei Phasen ein, in denen ein Eingriff in die Immunreaktionen vorgenommen werden kann. Der erste Abschnitt ist die "präinduktive" Phase, die vor der Verabreichung des Immunogens liegt. Die zweite oder "induktive" Phase ist der Zeitraum zwischen der Einwirkung des Immunogens und dem Erscheinen der korrespondierenden Serumantikörper. Die Zeitspanne, in der die Antikörper gebildet werden, wird als dritte oder "produktive" Phase bezeichnet. Die meisten Antimetaboliten haben ihre beste Hemmwirkung auf die Immunantwort, wenn sie gleichzeitig mit dem Immunogen, also in der zweiten, der "induktiven" Phase dem Organismus zugeführt werden.

BERENBAUM (1961) wies nach, daß diese Agentien auch in der Lage sind, die Immunantwort zu unterdrücken, wenn sie bis zu vier Tagen nach der Antigeninokulation gegeben werden, da sich in dieser Zeit die immun-kompetenten Zellen am schnellsten vermehren.

In Untersuchungen zur Depressionswirkung des Antimetaboliten 6-Mercaptopurin auf primäre Immunreaktionen bei verschiedenen Tierarten konnte FINGER (1967 und 1967a) durch dessen Applikation eine signifikante Depression der Antikörperbildung gegen Rinderserumalbumine und abge-

tötete *Brucella melitensis* Bakterien erzielen, wenn mit der Behandlung am Tag der Antigenapplikation begonnen wurde. Bei Meerschweinchen konnte weder die Agglutininbildung noch die Ausbildung der anaphylaktischen Schockbereitschaft durch Applikation hoher Dosen von 6-Mercaptopurin unterdrückt werden. Bei Mäusen dagegen ließ sich der immunologische Depressionseffekt von 6-Mercaptopurin bei der Gabe hoher Dosen nachweisen. Auch nach der Applikation des Antimetaboliten Cyclophosphamid kam es zu einer Hemmung der Produktion zirkulierender Antikörper bei Ratten, Mäusen, Meerschweinchen und Kaninchen nach Verabreichung des gleichen Immunogens.

2.4.3. Folsäureantagonisten

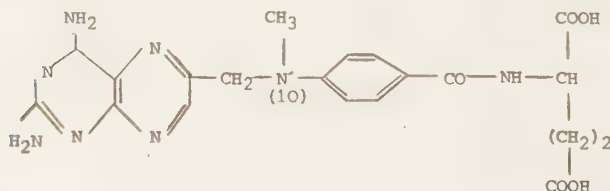
Folsäureantagonisten sind chemisch der Folsäure nahe verwandt und verdrängen diese vom Wirkungsort in der Zelle. Zu ihnen zählen das Aminopterin, das Amethopterin (Methotrexat), die Analoge der Tetrahydrofolsäure und die Dihomofoläure (LANGEN, 1968; HUMPHREY und WHITE, 1971).

2.4.3.1. Aminopterin

Das Aminopterin (3-Amino-pteroylglutaminsäure) ist der geschichtliche Vorläufer des Amethopterin (4-Amino-N-10-methylpteroylglutaminsäure) und war der erste Folsäureantagonist, der durch seine Verwendung bei der Leukämiebehandlung medizinische Bedeutung erlangte (HUMPHREY und WHITE, 1971). Bei gleicher Wirkung wird heute wegen der geringeren Toxizität ausschließlich das Amethopterin klinisch verwendet.

2.4.3.2. Amethopterin (Methotrexat)

2.4.3.2.1. Chemische Struktur



Amethopterin (4-Amino-N-10-methylpteroylglutaminsäure) ist chemisch ein Derivat der Folsäure und unterscheidet sich von dieser durch die Aminogruppe an C⁴ und die Methylgruppe an N¹⁰.

2.4.3.2.2. Biochemische Wirkung

Die Wirkung der Folsäureantagonisten Aminopterin und Amethopterin besteht in einer stoichiometrischen und kompetitiven Hemmung des Enzyms Dihydrofolsäurereduktase, da sie eine 10⁵-mal höhere Affinität als Folsäure zu diesem Enzym haben (LANGEN, 1968). Beim Vorliegen dieses Antimetaboliten wird die Umwandlung von Dihydrofolsäure zu Tetrahydrofolsäure, der eigentlich wirksamen Folsäure, gestört (HUMPHREY und WHITE, 1971). Aus diesem Grund können Folsäureantagonisten die Neubildung von Nukleinsäuren verhindern.

Das Eingreifen der Folsäure in den Stoffwechsel der Chlamydien ist zwar nicht genau geklärt, aber ihre Gegenwart ist als notwendig für die Reproduktion anzusehen, da die Folsäureanaloge in der Lage sind, die Chlamydienvermehrung zu verhindern (STORZ, 1971). POLLARD und SHARON (1963) konnten nachweisen, daß diese Hemmwirkung vom Vermehrungsstadium der Chlamydien abhängig ist. Die Amethopterinwirkung versagt 15 Stunden nach der Infektion der Zellen (siehe 2.2.7.1.).

2.4.3.2.3. Pharmakologie

Die Pharmakologie des Amethopterins wird von FREEMAN-NARROD (1962) für Menschen eingehend beschrieben. Danach wurde das Mittel von der Mehrheit der Patienten bei oraler Gabe schnell adsorbiert und nach kurzer Verweildauer rasch ausgeschieden. Bei wenigen beobachtete man einen langsamen Anstieg der Blutkonzentration nach kontinuierlicher Adsorption aus dem Darm.

Nach LANGEN (1968) erfolgte die Ausscheidung des Folsäureantagonisten bei Mensch und Tier innerhalb von 24 Stunden. Die Aldehyd-Oxidase bewirkt in der Leber die Inaktivierung. Nur ein kleiner Rest soll an das Enzym gebunden sehr lange im Körper verweilen.

Während bei Mäusen und Hunden die Immunitätsreaktionen unterdrückt werden, zeigt sich beim Kaninchen nur eine geringe Wirkung (HUMPHREY und WHITE, 1971). Die artspezifische Empfänglichkeit für Aminopterin und Amethopterin führt LANGEN (1968) auf das unterschiedliche Enzymmuster zurück und erklärt hiermit die natürliche Resistenz von Kaninchen und Meerschweinchen.

Die Toxizität des Amethopterins wurde von FERGUSON et al. (1950) mittels der LD_{50} -Bestimmung bei Mäusen und Ratten ermittelt. Bei einer einmaligen intraperitonealen Applikation lag die LD_{50} für Mäuse bei 94 ± 9 mg/kg KG und für Ratten bei 5 bis 25 mg/kg KG und für die orale Einzeldosis bei Ratten bei 180 ± 45 mg/kg KG. Wurde die intraperitoneal verabreichte Dosis auf fünf gleich große Tagesfraktionen verteilt, so nahm die Totaldosis der LD_{50} bei Mäusen bis auf $9,7 \pm 1,5$ mg/kg KG und bei Ratten auf 5,6 mg/kg KG ab.

Die pathologisch-anatomischen Veränderungen bei Ratten nach einmaliger hoher intraperitonealer Dosierung von 50 mg Amethopterin (AP) pro kg KG zeichnerten sich schon 15 Stunden nach der Injektion durch einen hypozellulären Zustand des Knochenmarks aus. Nach 72 Stunden bestand dieses aus einer roten Flüssigkeit, die nur noch annähernd ein Zehntel der ursprünglichen Zellen aufwies.

Gleiche Beobachtungen konnten auch im Blutbild gemacht werden. Bereits 6 bis 15 Stunden nach der Injektion wurde eine Reticulocytopenie und Panleukopenie manifest, die sich weiter ausprägte.

Bei der Parallelgruppe, die eine steigende Dosis von 0,1 bis 0,4 mg AP/kg KG bis zur gleichen Totaldosis durch tägliche Gaben intraperitoneal erhielt, zeigte das Knochenmark ähnliche Erscheinungen, wie sie bei den mit einer Einzeldosis von 50 mg AP/kg KG behandelten Tieren nach 72 Stunden beobachtet werden konnten. Die Erscheinungen im peripheren Blut standen zu den Veränderungen im Knochenmark in Beziehung.

Beide Gruppen zeigten eine ausgesprochene Lyphopenie und eine signifikante Anämie ohne Veränderung der Zellform oder des Hämoglobingehaltes der Erythrozyten.

2.4.4. Citrovorumfaktor

Die Wirkung der Folsäureantagonisten läßt sich durch die Zufuhr der eigentlichen Wirksubstanz, Folinsäure (Citrovorumfaktor) wieder aufheben (MORGAN, 1952; POLLARD und SHARON, 1963; LANGEN, 1968). Dieses war sowohl in vitro als auch in vivo zu erreichen. So konnte Folinsäure in einer Konzentration von 0,05 mcg pro ml Medium die Chlamydienvermehrung in Zellkulturen, die mit einem Aminopterinzusatz bis zu 100 mcg/ml vorbehandelt waren, wieder aktivieren (POLLARD und SHARON, 1963). Ebenso konnte diese Wirkung im Tierkörper erreicht werden (LANGEN, 1968).

3. Eigene Untersuchungen

3.1. Material und Methoden

3.1.1. Versuchstiere

Als Versuchstiere dienten weiße Mäuse vom Stamm NMRI-Hannover (Tierversuchsanstalt W. Gassner, 8741 Sulzfeld) beiderlei Geschlechts mit einem Gewicht von 20 Gramm für die Vermehrung der Chlamydien bzw. mit 10-14 Gramm für die Titration und den Nachweis der Chlamydien nach intracerebraler Inokulation. Die Haltung erfolgte in Makrolonkäfigen der Größe III bei einer Fütterung mit dem pelletierten Mäusefütterfutter "sniff" (Firma Intermast, Soest/Westf.). Wasser stand ad libitum zur Verfügung.

3.1.2. Chlamydienstämme

Für die Untersuchung wurden Psittakose-Feldstämme verwendet, die in der routinemäßigen Psittakosedagnostik im Landesuntersuchungsamt für das Gesundheitswesen Südbayern - Fachbereich Veterinärmedizin - im Jahre 1974 isoliert wurden.

Es wurden sowohl Stämme gewählt, die schon Kontakt mit Chlortetracyclin hatten, als auch solche, die mit Chlortetracyclin noch nicht in Berührung gekommen waren.

Als weiteres Auswahlkriterium diente die Vermehrungsfähigkeit der Erreger in der Maus. Die qualitative Beurteilung erfolgte pathologisch-anatomisch (FORTNER, 1953) und mikroskopisch. Bezeichnung und Herkunft der verwendeten Chlamydienstämme sind in der Tabelle III aufgeführt.

3.1.2.1. Chlamydienanreicherung

Die Anreicherung der Chlamydienstämme erfolgte in der weißen Maus. Das Ausgangsmaterial wurde dreimal im Abstand von sieben Tagen in jeweils 10 Mäusen passiert. Hierzu wurden die Leber und Milz im Verhältnis 1:5 in physiologischer Kochsalzlösung, die 0,5 mg Streptomycinsulfat/ml enthielt, homogenisiert und jeder Maus 0,5 ml intraperitoneal verabreicht.

Tabelle III: Verwendete Chlamydienstämme und deren Herkunft

Bezeichnung	Herkunft
370/74	Graupapagei aus Privatbesitz, unbehandelt, in der 2. Mäusepassage zeigt die Stamp-Färbung Einschlüsse
594/74	Organmaterial von 6 Amazonen aus einer Quarantänestation, Behandlung nicht abgeschlossen (Qu-Nr.228) eingesandt durch Inst. für Haus- und Wildgeflügel der Universität München, Tgb.-Nr. 1005
618/74	Organmaterial von 5 Graupapageien aus einer Quarantänestation, Behandlung nicht abgeschlossen (Qu.-Nr. 223), eingesandt durch Inst. für Haus- und Wildgeflügel der Universität München, Tgb.-Nr.1035
695/74	Organmaterial einer Amazone eingesandt durch HWG mit der Tgb.-Nr. 1145 aus einer Quarantänestation Behandlung nicht abgeschlossen (Qu.-Nr. F 4)
633 ₁ /74	Aus einer Kotprobe von unbehandelten Nymphensittichen, eingesandt durch Institut für Haus- und Wildgeflügel der Universität München, Vz.-Nr. 1037.
802/74	Organmaterial eines Wellensittichs, eingesandt vom Institut für Haus- und Wildgeflügel, dort parenteral mit CTC behandelt. Tgb.-Nr. 1271

3.1.2.2. Aufbereitung und Lagerung

Hierzu wurde Leber und Milz nach der unter Chlamydienanreicherung angegebenen Methode homogenisiert, nach 16-stündiger Lagerung bei $+4^{\circ}\text{C}$ für 10 Minuten bei 800 g zentrifugiert und der Oberstand aseptisch abgezogen. Dieser wurde ein zweites Mal unter gleichen Bedingungen in der Zentrifuge geklärt. Nach Prüfung auf Kontamination durch Bakterien und Mykoplasmen wurde das so für alle weiteren Versuche gewonnene Ausgangsmaterial in Portionen von 1 ml bei -70°C gelagert.

3.1.2.3. Titration der Chlamydiensuspension

Von dem Ausgangsmaterial wurde eine Verdünnungsreihe in Zehnerpotenzen von 10^0 bis 10^{-5} angelegt. Pro Verdünnungsstufe wurde 4 Mäusen von 10-14 Gramm 0,03 ml intracerebral inokuliert. Dazu dienten Rekordspritzen mit genügend feiner Graduierung und Kanülen der Größe Nr. 18. Die Inokulation wurde an mit Äther narkotisierten Mäusen vorgenommen, nachdem die Kopfhaut mit 95%-igen Alkohol desinfiziert worden war. Der Einstich erfolgte auf der Mitte der Verbindungslinie zwischen Auge und äußerem Gehörgang etwa 2 mm tief in Richtung auf das Auge hin. Die Berechnung des Titors erfolgte nach REED und MUENCH (1938) in LD_{50} (50% Letaldosen). Diese wurden durch Erregernachweis an den verendeten Tieren festgestellt. Dazu wurden die Meningen mittels Abklatsch und anschließender Färbung nach Stamp bzw. durch direkte Immunofluoreszenz auf Chlamydieneinschlüsse untersucht. Die Titer sind aus der Tabelle IV (Seite 50) zu ersehen.

3.1.3. Zellkulturen

3.1.3.1. Ansatz der Hühnerembryofibroblastenzellkulturen (FHE)

Es fanden primäre Zellkulturen aus Hühnerembryo-Fibroblasten (FHE) Verwendung. Sie wurden aus 10-11-Tage vorgebrüteten Hühnerembryonen nach den üblichen Methoden (MAYR und KALCHER, 1960) durch Trypsinandauung gewonnen (DULBECCO und VOGT, 1952).

Das Anzuchtmedium bestand aus 10% Laktalbuminhydrolysat (5%-ige Lösung), 5% foetalem Kälberserum, 1,5% Phenolrot (0,1%-ige Lösung) ad 100 Earle'sche Salzlösung, aus der Zugabe von Antibiotikum (100 mcg Streptomycinsulfat/ml) und Antimykotikum (Amphotericin-B 0,25 mcg/ml).

Rinderamminonflüssigkeit (RAF) mit einem Zusatz von 1,5% Phenolrot und dem oben genannten Antibiotikum und Antimykotikum stellte das Erhaltungsmedium dar.

Als Kulturgefäße dienten einfache Kulturröhrchen in Reagenzglasform, die mit 2 ml Medium beschickt wurden.

3.1.3.2. Infektion der Zellkultur

Dicht gewachsene FHE wurden zweimal mit phosphatgepufferter Salzlösung (PBS) gewaschen, mit 1 ml einer 1:100 Verdünnung (2332 Mäuse-LD₅₀) des Chlamydienstammes 370/74 für 90 Minuten bei 37°C adsorbiert, dreimal mit PBS gewaschen und anschließend mit 2 ml Erhaltungsmedium beschickt. Die verschiedenen Zusätze und Konzentrationen sind den Beschreibungen (3.2.3) bzw. der Versuchsanordnung (Tabelle VII) zu entnehmen.

3.1.4. Nachweismethoden des Erregers Chlamydia psittaci

3.1.4.1. Stamp-Färbung

Die Färbung der Präparate wurde nach einer von Wachendörfer (pers. Mitt.) modifizierten Stamp-Färbung nach folgendem Schema durchgeführt.:

- a) Ausstrich schonend hitzefixieren
- b) Auftragen der Fuchsinlösung
(450 ml 5%-ige Karbolsäure und 50 ml Fuchsin-Stammlösung werden 1:5 mit Aqua dest. verdünnt.)
10 Minuten einwirken lassen
- c) Abspülen mit Leitungswasser
- d) Differenzieren in 0,05%-iger Schwefelsäurelösung ca. 3-5 sec
- e) Abspülen mit Leitungswasser
- f) Gegenfärben mit 3%-iger Malchitgrünlösung 20-30 sec
- g) Abspülen mit Leitungswasser

In der lichtmikroskopischen Beurteilung wurden nur solche Einschlüsse als positiv bewertet, die mit dem typischen Verteilungsmuster eindeutig im Zellplasma lagen (siehe auch: 3.1.4.2.).

3.1.4.2. Direkte Immunfluoreszenz

Hierzu wurden die Abklatschpräparate nach Lufttrocknung 1/2 Stunde bei -20°C in Aceton p.A. fixiert und erneut kurz luftgetrocknet. Die Inkubation mit dem Konjugat* erfolgte in der feuchten Kammer bei 37°C für 1/2 Stunde. Die Einbettung wurde mit carbonatgepuffertem Glycerin vorgenommen (9 Teile Glycerin, 1 Teil Natriumbikarbonatlösung).

Als optische Ausrüstung stand ein Zeiss-Mikroskop STANDART mit Fluoreszenz-Auflichtkondensor zur Verfügung. Als Lichtquelle diente die Quecksilber-Höchstdrucklampe HBO 50W. Die Filterkombination bestand aus dem Erregerfilter Interferenz-Blaufilterkombination 455...490, dem Strahlenteiler Farbteiler FT 510 und dem Sperrfilter Interferenz-Grünfilterkombination 520...560.

Das Objektiv führte die Bezeichnung NEOFLUAR 30/0,75. Es kam ein mittelstarkes Okular der Vergrößerung 1:10 zur Verwendung.

Bei der fluoreszenzmikroskopischen Beurteilung wurden nur homogene und körnig strukturierte Intraplasmatische Zelleinschlüsse als positiv bewertet. Nach der Verteilung der fluoreszierenden Zellen im Präparat erfolgte folgende Bewertung:

Einzelne fluoreszierende Zellen wurden mit +, einzelne Regionen mit ++ und zahlreich auftretende und zusammenhängende Zellregionen mit +++ bewertet.

3.1.4.3. Nachweis des Erregers aus Medium und Zellkulturphase der infizierten Zellkulturen

Zellen und Medium wurden getrennt von einander bei -70°C eingefroren. Dazu wurde zunächst das Medium getrennt abgefüllt, die verbleibende Zellkultur dreimal mit PBS gewaschen, mit 2 ml Earle'scher Salzlösung, die 5% fötales Kälberserum enthielt, durch zweimaliges Gefriertauen aufgeschossen und bei -70°C gelagert.

*Das mit Fluorescein-Isothiocyanat markierte Chlamydienkonjugat wurde freundlicherweise vom Staatl. Veterinäruntersuchungsamt Arnsberg/Westf. Prof. Dr. Schaal zur Verfügung gestellt.

Zum Nachweis vermehrungsfähiger Chlamydien wurde die Medium- und Zellphase auf jeweils 4 Mäuse intracerebral verimpft. War der Chlamydien-nachweis vom Meningenabklatsch nach einer Versuchsdauer von 8 Tagen nicht möglich, so wurden bis zu 3 intraperitoneale Mäusepassagen zur Erregeranreicherung auf jeweils 4 Tieren für eine Woche durchgeführt. Hierbei erfolgte eine mikroskopische Beurteilung des Milzabklatschpräparates mit Hilfe der Stamp-Färbung bzw. mittels der direkten Immunofluoreszenz.

3.1.5. Verwendete Arzneispezialitäten

3.1.5.1. Chlortetracyclin (CTC)

Das Chlortetracyclin wurde als Chlortetracyclin-HCl der Firma Lederle-Cyanamid GmbH (Fabrikations-Nr. Batch 3309 B) bezogen. Der Wirkstoffanteil betrug 96,4%. Dies entspricht bei 104 g CTC-HCl 100 g Base. Im Resistenztest der Chlamydienstämme gegen Chlortetracyclin (3.2.1.2.) und im Immunsuppressionsversuch (3.2.2.) zur Prüfung der CTC-Wirkung auf Chlamydien wurde den Mäusen 0,25 ml einer 0,2%-igen CTC-Lösung subkutan am Rücken verabreicht. Als Beigabe zum Zellkulturmedium im Modellversuch der latenten Infektion (3.2.3.) wurde eine Konzentration von 0,005⁰/oo (5mcg/ml) CTC verwendet.

3.1.5.2. Amethopterin (AP)

Der Folsäureantagonist AP¹ (4-Amino-10-methylpteroylglutamin-Na-salz) wurde in den Versuchen 3.2.2. und 3.2.3. als Immunsuppressivum, bzw. zur Herstellung einer latenten Infektion in Zellkulturen verwendet.

Im Immunsuppressionsversuch wurde jeder Maus 0,2 mcg AP pro g KG (0,2 mg/kg) intraperitoneal verabreicht.

Die Konzentration in den Zellkulturmedien im Modellversuch der latenten Infektion betrug 0,01 ⁰/oo (100 mcg/ml).

¹Amethopterin (Methotrexat) Hersteller: Serva, Entwicklungslabor Heidelberg

3.1.5.3. Citrovorumfaktor

Zur Aufhebung der Latenz im Modellversuch der latenten Infektion (3.2.3.) wurde das Citrovorumfaktor-Ca-salz² (Folinsäure-Ca-salz: Summenformel $C_{20}H_{21}N_7O_7 \cdot Ca \cdot H_2O$) verwendet. Die Zugabe zum Zellkulturmedium betrug 0,05 mcg/ml.

3.1.6. Resistenztest der Chlamydienstämmen gegen Chlortetracyclin und dessen statistische Auswertung

Zur Feststellung einer möglichen Chlortetracyclinresistenz der Psittakosestämmen diente die von Wagner, J.C. und Mitarbeitern erarbeitete Methode (WACHENDÜRFER et al., 1973b).

Zur Empfindlichkeitsprüfung wurde von jedem Stamm ein Kollektiv von 50 Mäusen mit einem Gewicht von 10-14 Gramm mit 100 LD₅₀ der Chlamydien-suspension intracerebral infiziert. Am 2. bis 6. Tag p.i. wurde die Hälfte der Mäuse täglich mit 0,5 mg Chlortetracyclin-HCl, die in 0,25 ml physiologischer Kochsalzlösung gelöst wurde, durch subkutane Verabreichung am Rücken behandelt.

Jede in der Versuchszeit von 4 Wochen gestorbene Maus wurde einer Untersuchung der Meningen auf Chlamydien mit Hilfe der Immunofluoreszenz unterzogen. In gleicher Weise wurden alle Mäuse, die bis zum Versuchsende lebten, nach ihrer Tötung untersucht.

Zur statistischen Auswertung wurde für jeden Erregerstamm die Mortalität h ermittelt, die sich aus der Beziehung $h = \frac{z}{n}$ ergibt, wobei z die Anzahl der gestorbenen Versuchstiere und n die Anzahl der infizierten und behandelten Tiere angibt.

Nimmt man an, daß zwischen den untersuchten Stämmen keine Empfindlichkeitsunterschiede bestehen und somit das Sterben und das Überleben zufällig auftritt, so ergibt sich die Wahrscheinlichkeit, daß trotz Chlortetracyclinbehandlung Mäuse sterben nach der Gleichung

$$p = \frac{\sum_{i=1}^k z_i}{\sum_{i=1}^k n_i} = \frac{z_1 + z_2 + \dots + z_k}{n_1 + n_2 + \dots + n_k}$$

²Citrovorumfaktor Hersteller: Serva, Feinbiochemica, Heidelberg

Bei dieser Beziehung ist i die Anzahl der Versuche, z_1 die Anzahl der im i -ten Versuch gestorbenen Mäuse und n_1 die Anzahl der im i -ten Versuch infizierten Mäuse.

Mit Hilfe der Binominalverteilung läßt sich die Wahrscheinlichkeit errechnen, daß bei geschätzten $\hat{p}$ -Wert von 25 Tieren genau $x=0,1,2, \dots$ Tiere sterben.

$$\hat{q} = 1 - \hat{p} \quad f(x) = \binom{n}{x} \hat{p}^x \hat{q}^{n-x}$$

Multipliziert man die Anzahl der Versuche mit den entsprechenden Wahrscheinlichkeiten, so erhält man die Erwartungswerte für die Anzahl der Versuchsausgänge, bei denen 0,1,2,... gestorbene Tiere registriert werden, falls p in allen Versuchen konstant ist.

Beim Vergleich der beobachteten mit den unter der Hypothese berechneten Werten ergibt sich, ob die Hypothese zutrifft. Es zeigt sich, ob die Wahrscheinlichkeit, trotz Chlortetracyclinbehandlung zu sterben, bei allen Stämmen gleich ist, was darüber Aufschluß gibt, ob Resistenzunterschiede zwischen den einzelnen Stämmen bestehen.

3.2. Versuche und Ergebnisse

3.2.1. LD₅₀-Bestimmung und Resistenztest gegen Chlortetracyclin der verwendeten Chlamydienfeldstämmе

Diese Versuche dienten dazu, die Mäusepathogenität bei intracerebraler Inokulation und die Chlortetracyclinempfindlichkeit der sechs Chlamydienfeldstämmе (Tabelle III) zu testen. Das Ziel war die Auswahl eines genügend pathogenen, aber gegen Chlortetracyclin hoch empfindlichen Chlamydienstammes für die Durchführung der Hauptversuche.

Gleichzeitig sollte bei diesen Feldstämmen, die zum Teil nach ihrer Vorgeschichte schon Kontakt mit diesem Antibiotikum hatten, eine mögliche Resistenz- oder Teilresistenzentwicklung gegen Chlortetracyclin aufgedeckt werden.

3.2.1.1. LD₅₀-Bestimmung der Chlamydienstämmе

Ab dem 2. Tag nach intracerebraler Applikation der verschiedenen Chlamydienfeldstämmе stellten sich die ersten Krankheitserscheinungen mit struppigem Haarkleid, gekrümmtem Rücken, Ataxien und Gewichtsverlust durch mangelnde Flüssigkeits- und Futteraufnahme ein.

Bei den 24 Mäusen, die pro Chlamydienstamm mit den abgestuften Verdünnungen infiziert wurden, traten die Todesfälle zwischen dem 3. und 10. Tag p.i. ein und verteilten sich prozentual auf folgende Tage:

3. Tag	4. Tag	5. Tag	6. Tag	7. Tag	8. Tag	9. Tag	10. Tag
3%	18%	19%	34%	15%	6%	2%	3%

Der Erregernachweis war bei allen verwendeten Mäusen mittels Stamp-Färbung möglich.

Die verschiedenen Chlamydienstämmе waren bezüglich ihrer Mäusepathogenität gleichwertig, in ihrer Mäuseletalität jedoch unterschiedlich. So schwankte die 50%-Letaldosis (LD₅₀) zwischen $10^{-1.43}$ und $10^{-3.5}$ (Tabelle IV).

3.2.1.2. Chlortetracyclinempfindlichkeit der Chlamydienstämmen (Resistenztest)

Der Versuch umfaßte pro Chlamydienstamm 50 Mäuse, von denen jedes Tier mit 100 LD₅₀ des entsprechenden Stammes infiziert wurde.

Die Hälfte der infizierten Tiere eines jeden Chlamydienstammes wurde vom 2. bis zum 6. Tag p.i. täglich mit 0,5 mg Chlortetracyclin behandelt. Versuchsanordnung und Ergebnisse sind der Tabelle IV zu entnehmen.

Die nicht CTC-behandelten Tiere zeigten gleiche Krankheitserscheinungen, wie sie im vorherigen Versuch (LD₅₀-Bestimmung) beschrieben wurden. Durch die Infektionsdosis von 100 LD₅₀ verendeten alle Tiere und die Todesfälle konzentrierten sich bei allen eingesetzten Chlamydienstämmen einheitlich auf den 6. und 7. Tag (83%). Die prozentuale Verteilung der Sterbefälle nach Tagen wies folgendes Muster auf:

5. Tag	6. Tag	7. Tag	8. Tag	9. Tag	10. Tag
9%	48%	35%	2%	4%	2%

Bei den mit Chlortetracyclin behandelten Mäusen war eine unterschiedliche Mortalitätsrate zwischen den verschiedenen Stämmen zu beobachten. So überlebten alle Mäuse der Gruppe 1 bis 3 die Infektion, während bei der Gruppe 4 sechs (12%), bei der Gruppe 5 neun (36%) und bei der Gruppe 6 zehn (40%) von jeweils 25 Mäusen starben. Die ersten Todesfälle traten 14 Tage p.i. und 8 Tage nach der letzten Chlortetracyclinverabreichung auf. Die Sterbefälle verteilten sich prozentual auf folgende Tage:

14. Tag	15. Tag	16. Tag	17. Tag	18. Tag	19. Tag	20. Tag
32%	14%	4%	23%	18%	5%	4%

Bei allen in diesem Versuch verendeten Tieren konnte der Erreger nachgewiesen werden. Bei den nicht verendeten, aber am Versuchsende getöteten war der Erregernachweis weder mittels Stamp-Färbung noch mit der direkten Immunofluoreszenz möglich.

Gruppen	Bezeichnung der verwendeten Chlamydienstämme	LD ₅₀	R e s i s t e n z t e s t							
			Infektionsdosis	mit Chlortetracyclin 1)		ohne Clortetracyclin			95% Vertrauensgrenze d. Mortalität	
				infizierte Mäuse	gestorbene Mäuse	Mortalität in Prozent	infizierte Mäuse	gestorbene Mäuse		Mortalität in Prozent
1	370/74	10 ^{-3,5}	100 LD ₅₀	25	0	0	25	25	100	0-13
2	594/74	10 ^{-2,6}	100 LD ₅₀	25	0	0	25	25	100	0-13
3	618/74	10 ⁻²	100 LD ₅₀	25	0	0	25	25	100	0-13
4	695/74	10 ^{-2,2}	100 LD ₅₀	25	3	12	25	25	100	0-26
5	633 ₁ /74	10 ^{-1,48}	100 LD ₅₀	25	9	36	25	25	100	17-55
6	802/74	10 ^{-2,7}	100 LD ₅₀	25	10	40	25	25	100	21-59

1) 0,5 mg Chlortetracyclin-HCl in 0,25 ml physiologischer Kochsalzlösung von 2. bis 6. Tag subkutan am Rücken verabreicht

Tabelle IV: Ergebnisse der LD₅₀-Bestimmung und des Resistenztestes

Dieser Versuch zeigte, daß die Infektionsdosis von 100 LD₅₀ bei allen Kontrolltieren zum Tode führte, während bei den mit Chlortetracyclin behandelten Gruppen 1-3 alle überlebten und bei den Gruppen 4-6 eine unterschiedliche Mortalitätsrate festzustellen war. Die Todesrate und deren 95%-Vertrauensgrenzen sind in der Tabelle IV aufgeführt.

Durch die Chlortetracyclingabe konnte eine Verschiebung des Eintritts des Todesfälle um etwa den Zeitraum beobachtet werden, wie Tage zwischen Infektion und letzter Chlortetracyclingabe lagen.

Da sich der Chlamydienstamm 370/74 (Gruppe 1) als vollemmpfindlich gegenüber Chlortetracyclin zeigte und außerdem die höchste Letaldosis aufwies, wurde dieser Chlamydienstamm für die weiteren Untersuchungen ausgewählt.

3.2.2. Immunsuppressionsversuch bei mit Chlamydia psittaci infizierten und mit Chlortetracyclin behandelten Mäusen.

In diesem Versuch sollte die Beeinträchtigung der Eliminierungspotenz des Mäuseorganismus durch Amethopterin gegenüber dem durch Chlortetracyclin in seiner Vermehrungsfähigkeit gehemmten Erreger Chlamydia psittaci untersucht werden (Tabelle Nr. V-VII : Versuchsanordnung, Erregernachweis, Klinik und Pathologie).

In der Gruppe 1, der Amethopterinkontrolle, wurden 20 Mäuse vom Gewicht 10-14 g über den Versuchszeitraum von 28 Tagen jede mit 0,2 mg AP/kg KG jeden 2. Tag intraperitoneal behandelt. Während dieser Zeit wurden eine klinische Beobachtung und am Ende des Versuches eine pathologisch-anatomische Beurteilung der getöteten Tiere vorgenommen. Dabei war lediglich eine leichte periphere Leberverfettung durch die toxische Wirkung des Antimetaboliten bedingt zu diagnostizieren.

Die Gruppe 2 als Infektionskontrolle diente zur Überprüfung der ausreichenden Pathogenität des verwendeten Chlamydienstammes 370/74. Hierzu wurden 25 zwischen 10 und 14 g schwere Mäuse intracerebral mit einer Dosis von 320 LD₅₀ infiziert.

Die Tiere zeigten fast einheitlich am 2. Tag p.i. beginnende klinische Störungen des Allgemeinbefindens, die sich vom 3. bis zum 4. Tag zu deutlich erkennbaren, typischen Krankheitserscheinungen mit ausgeprägten Ataxien und Gewichtsverlusten steigerten. Am 5. Tag verendeten ca. 40% und am 6. Tag die restlichen Mäuse.

Die Meningenabklatschpräparate dieser Mäuse waren in der Stamp-Färbung ohne Ausnahme als Psittakose positiv anzusehen.

Die Gruppe 3 galt der Kontrolle der Chlortetracyclinempfindlichkeit des Chlamydienstammes 370/74. Es wurden wie im Resistenztest (3.2.1.2.) 25 Mäuse mit einer Dosis von 320 LD₅₀ des Stammes 370/74 intracerebral infiziert, und vom 2. bis zum 6. Tag p.i. wurde jeder Maus täglich 0,5 mg Chlortetracyclin subkutan am Rücken verabreicht. Die Beobachtungsdauer betrug 28 Tage. In diesem Zeitraum zeigten die Mäuse keine Krankheitserscheinungen.

In den Meningenabklatschpräparaten, die am Ende des Versuches von jedem Tier angefertigt wurden, konnten weder mittels Stamp-Färbung III-Körperchen noch konnte in der Immunofluoreszenz Psittakose-Antigen nachgewiesen werden.

Die Gruppe 4 zur Untersuchung der Amethopterinwirkung auf den Krankheitsverlauf bei mit Chlamydien infizierten Mäusen umfaßte insgesamt 90 Mäuse zwischen 10 und 14 g.

30 Tiere wurden mit einer Dosis von 100 LD₅₀ (Gruppe 4A) und weitere 30 mit 320 LD₅₀ (Gruppe 4B) des Chlamydienstammes 370/74 intracerebral infiziert. Diese erhielten jeden 2. Tag beginnend mit dem Tag der Infektion je 0,2 mcg AP/kg KG bis Versuchsende intraperitoneal verabreicht.

Bei weiteren 30 Mäusen, mit 320 LD₅₀ infiziert (Gruppe 4C) erfolgte die intraperitoneale Amethopteringabe 24 und 2 Stunden vor, 3 Stunden und jeden 2. Tag nach der Infektion. Außerdem wurde 15 Stunden p.i. das Amethopterin in gleicher Dosierung intracerebral appliziert.

Bei allen 90 Mäusen konnte die unterschiedlich zahlreiche und unterschiedlich hohe AP-Gabe keine Abweichung im Krankheitsgeschehen zu den Tieren der Infektionskontrolle erzeugen, die auf eine Beeinträchtigung der Chlamydienvermehrung schließen ließ.

Der Chlamydiennachweis war in allen Fällen mit der Stamp-Färbung möglich.

In der Gruppe 5 sollte die Chlortetracyclinwirkung auf das Krankheitsgeschehen bei Chlamydien infizierten und mit Amethopterin immunsuppressiv behandelten Mäusen untersucht werden.

55 Mäusen, mit einer Dosis von 320 LD₅₀ des Stammes 370/74 intracerebral infiziert, wurde vom 2. bis zum 6. Tag p.i. täglich 0,5 mg Chlortetracyclin subkutan am Rücken verabreicht. Mit der Infektion und an jenem 2. Tag erfolgte eine zusätzliche intraperitoneale Gabe von 0,2 mg AP/kg KG bis zum Versuchsende am 28. Tag.

Vom 9. bis zum 10. Tag p.i., dem 3. und 4. Tag nach Absetzen der Chlortetracyclingabe, erkrankten 22 Mäuse mit den typischen Symptomen.

Sechs dieser Tiere zeigten bis zum Versuchsende eine deutliche Rekonvaleszenz. Am 11. Tag p.i. verendeten 11 Mäuse, am 13. Tag weitere 7 und am 17. und 18. Tag je eine.

Pathologisch-anatomisch wiesen alle verendeten Tiere eine deutliche Gefäßinjektion an den Meningen auf. Bei einzelnen war eine leichte Milzschwellung und eine mittelgradige, periphere Verfettung der Lebertälppchen zu beobachten.

Die klinisch gesunden und rekonvaleszenten Tiere, die am Versuchsende getötet wurden, wiesen keine pathologisch-anatomischen Veränderungen auf.

Die Beurteilung nach Anzahl und Verteilung der fluoreszierenden Zellen in den Meningenabklatschpräparaten ließ eine deutliche Unterscheidung zwischen den verendeten und rekonvaleszenten Tieren einerseits und den klinisch gesunden andererseits zu. So zeigten die Abklatschpräparate bei den klinisch gesunden Tieren nur einzelne fluoreszierende Zellen und Regionen (+ bis ++), während bei den verendeten und rekonvaleszenten Tieren über das gesamte Präparat dicht aneinander liegende Zellregionen fluoreszierten (+++).

Versuchsgruppen	V e r s u c h s a n o r d n u n g			
	Anzahl der Mäuse	i.c. Infektions- dosis LD ₅₀	CTC-Dosierung	AP-Dosierung
Amethopterinkontrolle (Gruppe 1)	20	-	-	0,2 mg/1k KG jeden 2. Tag (Gesamt 2,8 mg/kg KG)
Infektionskontrolle (Gruppe 2)	25	320	-	-
Chlortetracyclinkontrolle (Gruppe 3)	25	320	2.-6.Tag p.i. täg- lich 0,5 mg/Tier	-
Amethopterinwirkung auf Chlamydia psittaci in der Maus (Gruppe 4)	A 30	100	-	4x0,2 mg/kg KG bis zum 6.Tag p.i. (Ge- samt: 0,8 mg/kg KG)
	B 30	320	-	4x0,2 mg/kg KG bis zum 6.Tag p.i. (Ge- samt: 0,8 mg/kg KG)
	C 30	320	-	8x0,2 mg/kg KG bis zum 6.Tag p.i. (Ge- samt: 1,6 mg/kg KG)
Chlortetracyclinwirkung auf Chlamydia psittaci bei Vor- liegen von Amethopterin (Gruppe 5)	55	320	2.-6.Tag p.i. täg- lich 0,5 mg/Tier	0,2 mg/kg KG jeden 2. Tag (Gesamt: 2,8 mg/kg KG)

Tabelle V: Immunsuppressionsversuch (Versuchsanordnung)

Gruppe	klinische Befunde	pathologische Erhebungen
1	keine Krankheiterscheinungen	Leberschwellung- und Verfettung
2	Erkrankungen ab dem 3.Tag p.i.; Ataxien, Gewichtsverlust; Tod aller Tiere bis zum 6. Tag	Milzschwellung; Injektion der Gefäße in den Meningen
3	keine Krankheiterscheinungen	keine Veränderungen
A	Erkrankungen ab dem 3.Tag p.i.; Ataxien, Gewichtsverlust; Tod aller Tiere bis zum 6. Tag	Milzschwellung; Injektion der Gefäße in den Meningen
B	Erkrankungen ab dem 3.Tag p.i.; Ataxien, Gewichtsverlust; Tod aller Tiere bis zum 6. Tag	Milzschwellung; Injektion der Gefäße in den Meningen
C	Erkrankungen ab dem 3.Tag p.i.; Ataxien, Gewichtsverlust; Tod aller Tiere bis zum 6. Tag	Milzschwellung; Injektion der Gefäße in den Meningen
5	33 Tiere bis zum Versuchsende ohne Krankheiterscheinungen 22 Tier erkrankten ab dem 9.Tag p.i.; Ataxien, Gewichtsverlust davon: 16 Todefälle bis zum 18.Tag p.i. 6 Rekonvaleszenten bis zum Versuchsende (Klummern)	keine Veränderungen Milzschwellung; Injektion der Gefäße in den Meningen

Tabelle VI: Immunsuppressionsversuch (klinische und pathologisch-anatomische Befunde)

Gruppe	Inkubationszeit	Morbidität	Mortalität	Rekonvaleszenten	Erregernachweis bei			
					nicht erkrankten Tiere/ Gesamtzahl	rekonvaleszenten Tieren/ Gesamtzahl	verendeten Tieren/ Gesamtzahl	Gesamtzahl
1	-	0/25 (0%)	0/25 (0%)	-	-	-	-	-
2	3-4 Tage	25/25 (100%)	25/20 (100%)	0/25 (0%)	-	-	25/25 (100%)	25/25 (100%)
3	-	0/25 (0%)	0/25 (0%)	-	0/25 (0%)	-	-	0/25 (0%)
A	3-4 Tage	30/30 (100%)	30/30 (100%)	0/30 (0%)	-	-	30/30 (100%)	30/30 (100%)
	3-4 Tage	30/30 (100%)	30/30 (100%)	0/30 (0%)	-	-	30/30 (100%)	30/30 (100%)
	3-4 Tage	30/30 (100%)	30/30 (100%)	0/30 (0%)	-	-	30/30 (100%)	30/30 (100%)
5	9-10 Tage	22/55 (40%)	16/55 (29%)	6/55 (11%)	12/55 (22%)	6/55 (11%)	16/55 (29%)	33/55 (62%)

Tabelle VII: Immunsuppressionsversuch (Mortalität und Erregernachweis)

3.2.3. Die Wirkung des Chlortetracyclin auf die Vermehrung von Chlamydia psittaci in Zellkulturen (FHE) unter Amethoptereinfluß

In diesem Versuch wurde der Einfluß des Chlortetracyclins auf die Chlamydienvermehrung in mit Amethopterin vorbehandelten Hühnerembryo-fibroblastenzellkulturen (FHE) überprüft. Durch die Amethopterinzugabe zur Chlamydien infizierten Zellkultur sollte eine latente Infektion künstlich erzeugt und durch anschließenden Folinsäurezusatz der sich im Ruhestadium befindende Erreger wieder aktiviert werden.

Hierzu wurden vier Gruppen mit je 36 Hühnerembryofibroblastenzellkultur-röhrchen (FHE) mittels der Adsorptionsmethode mit 2334 Mäuse-LD₅₀ des Chlamydienstammes 370/74 infiziert (Versuchsanordnung: Tabelle VII). Die Gruppe 1 diente als Infektionskontrolle. Über die gesamte Versuchsdauer von 18 Tagen wurden die Zellkulturen täglich kontrolliert, und von jeweils 2 Röhrchen wurde die Medium- und Zellphase getrennt auf Mäuse zum Chlamydiennachweis verimpft.

In der Gruppe 2 wurde die Chlortetracyclinwirkung auf die Chlamydienvermehrung in der Zellkultur überprüft. Nach Adsorption der Chlamydiensuspension (370/74) wurde auf chlortetracyclinhaltiges Erhaltungsmedium und nach 9-tägiger Einwirkung auf neues Erhaltungsmedium ohne Zusatz von Chlortetracyclin gewechselt. Neben der mikroskopischen Beurteilung der Zellkulturen wurde täglich sowohl aus der Medium- als auch aus der Zellphase von jeweils 2 Röhrchen mit Hilfe der Anreicherung über Mäusepassagen versucht, den Erreger nachzuweisen.

Die Gruppe 3 diente als Kontrolle der latenten Infektion. Hierzu wurden die 36 Zellkulturen nach der Adsorption mit dem Stamm 370/74 9 Tage mit amethopterinhaltigem Erhaltungsmedium bebrütet und anschließend auf folinsäurehaltiges Medium gewechselt. Auch hier wurde neben der täglichen Beobachtung der Zellkulturen der Erregernachweis von der Medium- und Zellphase mittels Tierversuch geführt.

In der Gruppe 4 wurde nach der Erregeradsorption auf Chlortetracyclin- und amethopterinhaltiges Medium und nach neun Tagen auf Erhaltungsmedium mit Folinsäure (Citrovorunfaktor) gewechselt. Die morphologische Beurteilung der Zellkulturen und der Erregernachweis erfolgte wie bei den vorherigen Gruppen.

Außerdem wurden unbeimpfte und mit Chlortetracyclin und Amethopterin beimpfte Zellkulturen über die Gesamtversuchsdauer täglich kontrolliert. Dabei waren keine zytologischen Veränderungen feststellbar.

In der Infektionskontrolle (Gruppe 1) gelang der Erregernachweis an allen Versuchstagen aus Medium- und Zellphase. Nach intracerebraler Verimpfung war der Chlamydiennachweis in der Zellphase ab dem 3. Tag p.i. und in der Mediumphase ab dem 4. Tag p.i. möglich, während nach intraperitonealen Anreicherungspassagen der Erreger vom 1. Versuchstag an nachweisbar war.

Bei den Gruppen 2 und 4 konnte über die gesamte Versuchsdauer von 18 Tagen weder aus der Medium- noch aus der Zellphase auch nach den Anreicherungsversuchen über 3 Mäusepassagen *Chlamydia psittaci* nachgewiesen werden.

Während der 9-tägigen Bebrütungszeit mit amethopterinhaltigem Medium konnte kein Erregernachweis geführt werden. Nach dem Wechsel auf folinsäurehaltiges Medium erfolgte eine Aktivierung des Erregers, so daß außer in der Mediumphase des 13., 17. und 18. Tages p.i. in allen übrigen Proben *Chlamydia psittaci* nachgewiesen werden konnte.

Einen Überblick über die Ergebnisse mit der qualitativen Beurteilung des Erregernachweises mittels Immunofluoreszenz gibt die Tabelle IX.

Gruppen	Anzahl der Zellkultur-röhrchen	Infektionsdosis (Mäuse-LD ₅₀) je Röhrchen	Zusätze zum Medium vom 0. bis 9. Tag p.i.		Zusätze zum Medium vom 9. bis 18. Tag p.i. Citrovorum-faktor
			Amethopterin	Chlortetracyclin	
1 Chlamydienvermehrung in der Zellkultur (Infektionskontrolle)	36	2334 LD ₅₀	-	-	-
2 Chlamydienvermehrung in der Zellkultur bei CTC*-Wirkung	36	2334 LD ₅₀	-	5 mcg/ml	-
3 Chlamydienvermehrung in der Zellkultur bei AP**-Wirkung	36	2334 LD ₅₀	100 mcg/ml	-	0,05 mcg/ml
4 Chlamydienvermehrung in der Zellkultur unter CTC*-Wirkung bei Vorliegen von AP**	36	2334 LD ₅₀	100 mcg/ml	5 mcg/ml	0,05 mcg/ml

* Chlortetracyclin

**Amethopterin

Tabelle VIII. Versuchsanordnung zur Chlamydienvermehrung in vitro unter CTC- und AP-Einfluß

Gruppen	verimpftes Material	1. Tag	2. Tag	3. Tag	4. Tag	5. Tag	6. Tag	7. Tag	8. Tag	9. Tag	10. Tag	11. Tag	12. Tag	13. Tag	14. Tag	15. Tag	16. Tag	17. Tag	18. Tag
1	Zellen i.c.	4	4	1	2	+	3	+++	+++	+++	+++	++	++	+++	+++	++	+++	+++	+++
	Medium i.c.	4	4	4	+	++	+	++	++	+++	++	++	+++	++	++	++	+++	+++	++
2	Zellen i.c.	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Medium i.c.	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
3	Zellen i.c.	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
	Medium i.c.	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	++	-	++	+	+	-	-
4	Zellen i.c.	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Medium i.c.	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

1) += einzelne fluoreszierende Zellen

2) ++ = einzelne fluoreszierende Bezirke oder Zellregionen

3) +++ = dicht aneinander liegende fluoreszierende Zellregionen

4) interperitoneale Anreicherung

Tabelle IX: Ergebnisse der CTC-Wirkung auf die Vermehrung von *Clamidia psittaci* in Amethopterin vorbehandelten Zellkulturen

4. Besprechung der Ergebnisse

Innerhalb der Maßnahmen zur Bekämpfung der Psittakose/Ornithose nimmt das Chlortetracyclin sowohl bei der Prophylaxe als auch in der Therapie eine wichtige Stellung ein (WACHENDÜRFER, 1971; LOTHGEN, 1972; HAASS, 1973). Da es jedoch nur inhibitorisch in den Vermehrungszyklus eingreift und keine Chlamydien abtötende Wirkung hat (WACHENDÜRFER, 1971), ist die Abwehrlage des zu behandelnden Patienten für die Eliminierung des Erregers aus dem Organismus von entscheidender Bedeutung. In diesem Sinne ist die Langzeitbehandlung mit Chlortetracyclin bei einem genügend hohen Blutspiegel (MEYER und EDDIE, 1955; ARNSTEIN et al., 1968) nur als flankierende Maßnahme zur aktiven Ausscheidung des Erregers durch das Immunsystem des Wirtes anzusprechen.

Diese Annahme wird durch die Untersuchungen von ZEH (1976) unterstrichen, die nachwiesen, daß ein nach den bisherigen Kenntnissen als subtherapeutisch anzusehender Chlortetracyclin-Blutspiegel von 0,1 bis 0,3 mcg/ml ausreichen kann, den Organismus in die Lage zu versetzen, den Erreger zu eliminieren.

Wenn man davon ausgeht, daß bei den Untersuchungen von ZEH (1976) die Chlamydienstämme eine etwa gleiche Chlortetracyclinempfindlichkeit aufweisen, was man nach den bisher durchgeführten Resistenzuntersuchungen annehmen darf (WACHENDÜRFER et al., 1973), und daß der geforderte Chlortetracyclinmindestspiegel von 1,0 mcg pro ml Blut erreicht wurde, so kann die Diskrepanz zwischen der als Minimum geforderten Blutspiegelhöhe und dem Therapieerfolg in diesem Falle nur durch die konstitutionellen Eigenschaften der Tiere bedingt sein.

Für den Erfolg der therapeutischen Maßnahme muß die antibiotische Empfindlichkeit des jeweiligen Chlamydienstammes als grundlegende Forderung erfüllt sein. Diese Variable ist durch die Erstellung eines Resistenztestes meßbar.

Im Gegensatz dazu ist die Abwehrlage des Wirtstieres von seiner Konstitution und Kondition, seinem Alter und Geschlecht, seiner Fähigkeit der zellulären

und humoralen Resistenzfaktoren, seiner spezifischen und unspezifischen Disposition und von der Funktionstüchtigkeit seiner Immunitätsorgane genauso abhängig wie von den Umweltfaktoren wie Ernährung, Klima und soziale Faktoren (MAYR et al., 1969). Diese Einflüsse können, da sie nicht meßbar sind, in ihrer negativen und positiven Auswirkung auf die Infektionsabwehr nur sehr schwer gegeneinander abgewogen werden.

Sinn dieser Arbeit war es, die Beziehungen zwischen dem Erreger, dem Wirt mit seinem Immunsystem und dem Chlortetracyclin dahingehend zu untersuchen, ob allein durch die Einhaltung der gesetzlichen Vorschriften über die Dauer der Behandlung, die Dosierung des Chlortetracyclins und die Höhe des Blutspiegels das erwartete Ziel der Erregereliminierung erreicht werden kann.

Bei der Untersuchung wurden zunächst die für die Versuche relevanten Eigenschaften der Chlamydienfeldstämme abgeklärt.

Die notwendige Adaptation der Chlamydienstämme an das Wirtssystem Maus wurde an Hand der klinischen Erscheinungen und pathologisch-anatomischen Befunde beurteilt (MONREAL, 1960; WACHENDÖRFER et al., 1973) und war nach drei intraperitonealen Passagen bei jedem Stamm ausreichend. Bei der intraperitonealen Applikation stand jedoch die Todesrate zum Pathogenitätsgrad eines jeden Stammes in keiner direkten Relation, so daß dieser Modus zur Titrierung der Erregersuspension, wie schon WACHENDÖRFER et al. (1973) feststellte, nicht geeignet war.

Für Standardisierung eignete sich nur die LD_{50} -Bestimmung mittels intracerebraler Inokulation. Die einzelnen Feldstämme wiesen zwar eine gleichwertige Mausepathogenität, jedoch eine unterschiedliche Letalität auf, die sich in einer LD_{50} zwischen $10^{-1.48}$ und $10^{-2.5}$ ausdrückte. Die dabei beobachtete relativ weit gestreute Verteilung der Todesfälle zwischen dem 3. und 10 Tag p.i. mit einer deutlichen Verschiebung um den 6. Tag ist auf die Infizierung mit abgestuften Verdünnungen zurückzuführen. Bei den Mäusen, denen die nächsthöhere Verdünnung inokuliert wurde, traten die Krankheitserscheinungen und die darauf folgenden Todesfälle jeweils 1 bis 2 Tage später ein.

Der Resistenztest mit diesen Stämmen sollte einen Beitrag zur häufig geführten Diskussion der Resistenzbildung gegenüber Chlortetracyclin bei Chlamydien leisten, aber auch für die weiteren Untersuchungen einen voll CTC-empfindlichen Stamm ausfindig machen.

Die Infektionsdosis von 100 LD₅₀ reichte bei allen nicht mit Chlortetracyclin behandelten Kontrolltieren als sicher tödliche Dosis aus, was WACHENDÜRFERS (et al., 1973) Forderung einer Mindestmenge von 50 bis 100 LD₅₀ als brauchbar bestätigte. Die einheitlich hohe Infektionsdosis ergab im Gegensatz zu LD₅₀-Bestimmung eine stärkere Konzentrierung der Todesfälle auf den 6. und 7. Tag p.i.. Bei gleicher Dosis war bei allen Stämmen auch die Inkubationszeit mit 3 bis 4 Tagen etwa gleich lang.

Bei den mit Chlortetracyclin behandelten Tieren, die im Vergleich zu den unbehandelten die Grundlage für die Beurteilung der Chlortetracyclinwirkung darstellten, lösten die einzelnen Stämme bei den infizierten Mäusen unterschiedliche klinische Erscheinungen aus, so daß auf eine verschiedengradige Empfindlichkeit der Chlamydienisolate gegen das Antibiotikum geschlossen werden konnte. Bei den Stämmen 370/74, 594/74 und 618/74 traten weder klinische Erscheinungen noch Todesfälle auf. Für diese Isolate war in jedem Fall eine Vollempfindlichkeit anzunehmen; aber auch der Stamm 695/74, bei dem von 25 Tieren 3 (12%) starben, war bei Berücksichtigung der 95%-Vertrauensgrenze als vollempfindlich anzusehen. Lediglich die Isolate 633₁/74 und 802/74 wiesen eine Todesrate von 36 bzw. 40% (9 bzw. 10 von 25) auf. Dieses Ergebnis wich statistisch signifikant von den vollempfindlichen Stämmen ab, da bei einer 95%-Vertrauensgrenze maximal 13% der Tiere hätten sterben dürfen, um noch von einer Empfindlichkeit sprechen zu können.

Während bei Chlamydienstämmen mit einer 100%-igen Mortalität von einer Vollresistenz (GORDON et al., 1957) und bei einer Mortalität von 0% von einer Vollempfindlichkeit gegenüber CTC zu sprechen ist, sind die Kriterien einer Antibiotika-Teilresistenz bei Chlamydienstämmen noch nicht definiert (WACHENDÜRFER et al., 1973), d.h. Mortalitätsraten, ab denen man mit Sicherheit von einer Teilresistenz sprechen kann.

Die Stämme 633₁/74 und 802/74 können somit weder als resistent noch als empfindlich angesehen werden, sondern man kann sie mit einiger Sicherheit als "teilresistent" bezeichnen.

Für die weiteren Untersuchungen bot sich der ausreichend mäusepathogene und voll chlortetracyclinempfindliche Feldstamm 370/74 an.

Der Einfluß des Immunsystems auf die Eliminierung bei mit Chlamydien infizierten Tieren sollte in den folgenden Versuch geprüft werden. Als Versuchstiere wurden weiße Laboratoriumsmäuse verwendet, da sie sich in der Diagnostik und bei Resistenzuntersuchungen im Rahmen der Psittakosebekämpfung als geeignet erwiesen und ein "standardisiertes" Wirtssystem darstellen, das sich sehr gut unter normierten Bedingungen halten läßt. Mit Amethopterin immunsuppressiv behandelte Mäuse waren nicht in der Lage, eine Chlamydia-psittaci-Infektion durch eine an sich erfolgversprechende Chlortetracyclintherapie zu überwinden. Während das Antibiotikum nicht mit Amethopterin behandelte Kontrolltiere gegen eine sicher tödliche Infektionsdosis von 320 LD₅₀ ausreichend schützte, die Erregereliminierung unterstützte und auch nach Anreicherungspassagen Chlamydien nicht mehr nachweisbar waren, starben bei gleichzeitiger Amethopterin- und Chlortetracyclinokulation 40% der Tiere (22 von 55) an der Infektion und bei 62% (33 von 55) konnte der Erreger isoliert werden. Es verlängerte sich lediglich die Inkubationszeit um die Anzahl der Chlortetracyclin-Behandlungstage.

Die alleinige Amethopteringabe wurde von nicht infizierten Tieren ohne klinische Reaktionen ertragen; bei den infizierten Mäusen konnte keine Hemmung der Chlamydienvermehrung durch Amethopterin festgestellt werden, obwohl versucht wurde, durch Erniedrigung der Infektionsdosis, durch konzentrierte Gaben an den intracerebralen Infektionsort und durch gezielte Verabreichung zu dem Zeitpunkt, an dem der Folsäureantagonist in den Entwicklungszyklus der Chlamydien eingreift, die optimalen Voraussetzungen für eine Hemmung zu schaffen.

Diese Versuche zeigten, daß das Amethopterin auf die Chlamydienreproduktion keine hemmende, sondern allein eine immunsuppressive Wirkung auf den Organismus hat. Unter diesen Bedingungen der verminderten Eliminierungspotenz ist eine Chlortetracyclinwirkung für eine erfolgreiche Infektionsbekämpfung in Frage zu stellen.

Im nächsten Versuch sollte geklärt werden, welchen Einfluß das Chlortetracyclin auf sich nicht reproduzierende Chlamydien hat. So wurde das Immunsystem des Organismus, das eine zentrale Bedeutung für die Eliminierung des Erregers besitzt, in in-vitro-Versuchen ausgeschaltet. So sollte die Wirkung des Chlortetracyclins auf die in Zellkulturen sich nicht vermehrenden Erreger untersucht werden. Die Chlamydien verhielten sich dem Chlortetracyclin und Amethopterin gegenüber anders als es in vivo beobachtet worden war. Während in unbehandelten Zellkulturen ohne Chlortetracyclinzusatz die Erreger über die gesamte Versuchsdauer von 18 Tagen nachweisbar waren, wurde die Chlamydienvermehrung durch Chlortetracyclin innerhalb von 9 Tagen so nachhaltig beeinflußt, daß auch nach Antibiotikumentfernung keine Vermehrung mehr zustande kam. Versuche zur Aktivierung von in ihrer Reproduktionsfähigkeit geschwächten Erregern durch Mäusepassagen verliefen negativ. Dies war auch in dem Versuchsteil der Fall, in dem zum Chlortetracyclin gleichzeitig Amethopterin bis zum 9. Tag p.i. den Zellkulturen zugesetzt wurde. Stand dagegen Amethopterin als alleiniger Wirkstoff den Chlamydien gegenüber, so führte dies nur zu einer befristeten Wachstums hemmung des Erregers, die durch die Zugabe von Folinsäure (Citrovorumfaktor) wieder aufgehoben werden konnte.

Aus den Versuchsergebnissen ist zu erkennen, daß ein durch Amethopterin in seinen Immunsystem beeinträchtigter Organismus auch durch eine Chlortetracyclinbehandlung nicht in die Lage versetzt werden kann, sich gegen die Infektion mit einem Chlortetracyclin empfindlichen Chlamydienstamm zur Wehr zu setzen. Dies unterstreicht die unbedingte Notwendigkeit eines funktionierenden Immunsystems zur Abwehr einer Psittakoseinfektion. Das Amethopterin nimmt in dem Mäuseversuch nur die Funktion eines Immunsuppressivums wahr und zeigt keine Wirkung auf die Chlamydienvermehrung.

Der Zellkulturversuch einerseits und der Tierversuch andererseits zeigen in ihren unterschiedlichen Ergebnissen, daß das Chlortetracyclin nur dann in der Lage ist, die Erregervermehrung nachhaltig zu unterbinden, wenn ein inniger Kontakt zwischen dem Antibiotikum und den Chlamydien stattfindet; anders ist es nicht zu erklären, daß die Chlamydien in der Zellkultur eine so starke Schädigung erfuhren und nach Chlortetracyclinentfernung keine Vermehrung mehr zeigten, in immunsuppressiv behandelten Tieren sich aber wieder reproduzierten.

Unter Berücksichtigung dieser diskutierten Aspekte läßt sich der Tod der Tiere, die mit den in dieser Arbeit untersuchten Chlortetracyclin empfindlichen Chlamydienstämmen 594/74, 618/74 und 695/74 infiziert waren, mit ziemlicher Sicherheit auf ein geschwächtes Immunsystem zurückführen.

Für eine erfolgsversprechende Einfuhrbehandlung von Psittaciden ist auf Grund der durchgeführten Untersuchungen außer der Chlortetracyclinempfindlichkeit des Erregers und dem Erreichen eines genügenden Chlortetracyclinblutspiegels ein leistungsfähiges Immunsystem des Wirtstieres unabdingbare Voraussetzung. Diese Forderung kann nur erfüllt werden, wenn der Transport mit seinem starken Stressfaktoren ausreichend lange zurückliegt. Auch sollten nur solche Vögel behandelt werden, die sich bei einer klinischen Voruntersuchung als vollkommen gesund erweisen. Daß eine parenterale Infektionstherapie selbst bei klinisch inapparent infizierten Tieren trotz ausreichenden Chlortetracyclinspiegels nicht in jedem Fall ausreicht, haben schon die Untersuchungen von ZEH (1976) gezeigt; um so mehr ist der Behandlungserfolg bei kranken Tieren, wie WACHENDÖRFER (1972) es vorschlägt, zu bezweifeln.

Die Kontrolle der erfolgreichen Durchführung der Behandlung während der Quarantäne sollte sich deshalb besonders auf die Erregerisolierung nach Behandlungsabschluß, wie sie HAASS (1973) fordert, konzentrieren. Der Blutspiegelbestimmung kann nur eine geringere Bedeutung beigemessen werden.

Von der Möglichkeit nach § 5 Abs. 2 Nr. 3 der Papageien-Einfuhrverordnung und nach der Nr. 5.5.1. des Schreibens des Bayer. Staatsministeriums des Innern an die Regierung vom 21.8.1975 zum Vollzug der Papageien-Einfuhrverordnung außer Kotproben auch Organe zur Untersuchung zu entnehmen, sollte bei gezielter Auswahl des Untersuchungsmaterials stärker Gebrauch gemacht werden.

Eine Methode, die sich der Erregervermehrung in der Zellkultur bedient, könnte möglicherweise einen empfindlicheren und schnelleren Chlamydienachweis erbringen, als es derzeit der Tierversuch vermag.

5. Zusammenfassung

Der Erfolg der staatlichen Bekämpfungsmaßnahmen gegen die Papageienkrankheit ist von einer Reihe von Faktoren abhängig. Er wird durch die Chlortetracyclin-Empfindlichkeit der Chlamydienstämme, von der Chlortetracyclin-Blutspiegelkonzentration, vom Wirtstier und von der Umwelt positiv wie negativ beeinflusst.

Neben bereits Bekanntem konnten folgende Beziehungen ausgearbeitet werden:

1. Vier von sechs Chlamydien-Feldisolaten wiesen eine volle und die restlichen zweieine eingeschränkte CTC-Empfindlichkeit auf.
2. Der Folsäureantagonist Amethopterin zeigt in vivo keine Wirkung auf die Chlamydienreproduktion, sondern hat ausschließlich immunsuppressive Funktionen.
3. Bei mit Amethopterin vorbehandelten Mäusen konnte nach CTC-Behandlung die Chlamydienvermehrung wieder aktiviert werden.
4. In vitro verursacht das Amethopterin eine reversible Hemmung der Chlamydienreproduktion. Die in ihrer Vermehrungsfähigkeit gehemmten Erreger konnten nach CTC-Einwirkung nicht mehr aktiviert werden.

Für die Durchführung der staatlichen Bekämpfungsmaßnahmen ergibt sich folgende neue Erkenntnis:

Nur solche Tiere sind einer CTC-Prophylaxe zu unterziehen, die ein leistungsfähiges Immunsystem aufweisen. Dieses kann nur bei gesunden Tieren erwartet werden. Daher ist eine klinische Untersuchung vor der Behandlung unabdingbare Voraussetzung.

6. Summary

The success of governmental measures of control against Psittacosis depends on a number of factors. It is positively or negatively influenced by chlortetracycline susceptibility of chlamydia strains, by the blood concentration of chlortetracycline, by the host, and by the environment. In addition to already known interactions the following relations have been worked out:

1. Four out of six chlamydia psittaci field isolates showed a full chlortetracycline susceptibility the remaining two a limited one.
2. The folic acid antagonist amethopterin shows in vivo no effect at all on the reproduction of chlamydia but has solely immune-suppressive functions.
3. After a treatment with chlortetracycline, the increase of chlamydia could again be activated in mice pre-treated with amethopterin.
4. In vitro amethopterin causes a reversible inhibition of the reproduction of chlamydial agent could not be activated by the influence of chlortetracycline.

For carrying out measures of governmental control the following new aspect arises:

Only those animals showing an efficient immune-system should undergo prophylactic chlortetracycline treatment. This efficient immun-system can only be expected of healthy animals. Therefore a clinical examination before treatment is an unalterable requirement.

7. Literaturverzeichnis

Anders, W. und Prym, H. 1959: Zur Epidemiologie der Psittakose in der Bundesrepublik Deutschland.
Bundesgesundheitsblatt 2, 155-157.

Anders, W., 1961: Ornithose-Psittakose 1958/59 im Bundesgebiet und in West-Berlin.
Bundesgesundheitsblatt, 4, 17-19.

Anders, W., 1962: Zur Epidemiologie der Ornithose/Psittakose
Bundesgesundheitsblatt, 5, 316-319.

Arnstein, P., Cohen, D.H. und Meyer, K.F., 1964: Medication of pigeons with Chlortetracycline in feed.
J. Am. vet. med. Ass. 145, 921-924.

Arnstein, P., Eddie, B. und Meyer, K.F., 1968: Control of Psittacosis by group chemotherapy of infected parrots.
Am J. vet. Res. 29, 2213-2227.

Arnstein, P., Buchanan, W.G., Eddie, B. und Meyer, K.F., 1969: Chlortetracycline chemotherapy for nectar-feeding psittacine birds.
J. Am. vet. med. Ass. 154, 190-191.

Bader, J.P. und Morgan, H.R., 1958: Latent viral infection of cells in tissue culture, VI. Role of amino acids, glutamine, and glucose in Psittacosis virus propagation in L-cells.
J. exp. Med. 108, 617-629.

Beck, G. und Jüstel, J., 1970: Ein Beitrag zur Kasuistik der Psittakose/Ornithose.
Tierärztl. Umsch. 25, 427-428.

Beer, J., 1968: Papageienkrankheit. In: Röhrer, H.; Handbuch der Virusinfektionen bei Tieren, Jena, 1968.

- Benedict, A.A., 1958: Growth of meningopneumonitis and psittacosis virus in normal and immune guinea pig monocytes.
Nature (London) 181, 1742-1743. (zit. nach Storz, 1971).
- Berenbaum, M.C., 1964: Immunosuppressive agents - The design of selective therapeutic schedule. In: Sorkin, E., Antibiotica and Chemotherapy, Vol 15: The immun response and its suppression, Basel-New York, 1964.
- Berenbaum, M.D., 1961: Proc. 10th Int. Congr. Cell Biol.
Path. Biol. 9, 963-966. (zit nach Berenbaum, M.C., 1964).
- Bergsdorf, M. und Brinkmann, E., 1954: Ober einige Psittacosiserkrankungen in Braunschweig und ihre Behandlung mit Aureomycin.
Z. ges. inn. Med. 9, 98.
- Bösel, B. und Hartung, K., 1975: Praktikum des Infektions- und Impfschutzes, Berlin, 1975.
- Bolotovskij, V.M., 1959: zit. nach Beer, J., 1968.
- Brandis, H. (ed.), 1975: Einführung in die Immunologie.
Stuttgart, 1975.
- Broquist, H.P. und Kohler, A.R., 1954: Studies of the antibiotic potency in the meat of animals fed chlortetracycline.
Medical Encyclopedia, Antibiotics Annual, 1953-1954, 409-415, New York, 1954.
- Brüggemann, 1952: Vierte Verordnung zur Bekämpfung der Papageienkrankheit (Psittakose).
Dt. tierärztl. Wschr. 59, 157-158.
- Buckley, S.M., Whitney, E. und Rapp, F., 1955: Identification by fluorescent antibody of developmental form of psittacosis virus in tissue culture.
Proc. Soc. exp. Biol. Med. 90, 226-228.

- Bürki, F., 1970: Psittakose-Ornithose - eine Standortbestimmung.
Wien. tierärztl. Mschr. 57, 279-286.
- Burnet, Sir M., 1973: Körpereigene und körperfremde Substanzen bei
Immunprozessen.
Stuttgart, 1973.
- Bussel, R.H. und Pollard, M., 1958: Treatment of psittacosis, infected
parakeets with chlortetracycline. In: Progress in psittacosis
research and control, Beaudette, F.R.(ed.), New Brunswick/USA 1958.
- Colon, J.I. und Moulder, J.W., 1958: Folic acid in purified preparations of
members of the psittacosis group of microorganisms.
J. infect. Dis. 103, 109-119. (zit. nach Storz, J. 1971).
- Davis, B.D., Dulbecco, R., Eisen, H.N., Grinsberg, H.S., Wood, W.B. und
Mc Carty, M., 1973: Microbiology, 7. Aufl., Hagerstown/Maryland, 1973.
- Davis, D.E. und Delaplane, J.P., 1958: Turkey-ornithosis prophylaxis using
chlortetracycline. In: Progress in psittacosis research and control,
Beaudette, F.R. (ed.), New Brunswick/USA, 1958.
- Derzsy, D., 1957: Ornithose-Fälle in Hühnerbeständen.
Mag. Allat. Lap. 12, 172-174. (zit. nach Storz, J., 1971).
- Donaldson, R., Davis, D.E., Watkins, J.R. und Sulkin, S.E., 1958: The
isolation and identification of ornithosis in turkeys by tissue
culture and immunocytochemical staining.
Am. J. vet. Res. 19, 950-954.
- Dorn, P., 1971: Handbuch der Geflügelkrankheiten, Stuttgart, 1971.
- Drobyshevskaya, A.I., Pigarevsky, V.E. und Smorodintsev, A.A., 1962:
Activity of phagocytic factors in experimental infection of whitemice
with mousepneumonia and meningopneumonia virus.
Acta Virology 6, 458-470. (zit. nach Storz, 1971).

Dulbecco, R. und Vogt, M., 1952: Monolayer tissue cultures.
Proc. Nat. Acad. Sci. 38, 376-380.

Eugster, A.K., Joyce, B.K. und Storz, J., 1970: Immunofluorescence studies on the pathogenesis of intestinal chlamydial infections in calves.
Infection and Immunity, 2, 351-359.

Ferguson, F.C., Thiersch, J.B. und Philips, F.S., 1950: The action of 4-amino-N¹⁰-methylpteroylglutamic acid in mice, rats and dogs.
J. Pharmac. exp. Ther. 98, 293-299.

Finger, H., 1967: Die Depression der primären Immunitätsreaktionen durch 6-Mercaptopurin und Cyclophosphamid bei verschiedenen Tierarten.
I. Die Unterdrückung der primären Immunitätsreaktionen von Kaninchen durch 6-Mercaptopurin und deren Beeinflussung durch bakterielle Endotoxine.
Z. ges. inn. Med. 142, 45-56.

Finger, H., 1967a: Die Depression der primären Immunitätsreaktionen durch 6-Mercaptopurin und Cyclophosphamid bei verschiedenen Tierarten.
II. Die unterschiedliche Beeinflussung der Antikörperbildung von Kaninchen, Meerschweinchen, Ratten und Mäusen durch 6-Mercaptopurin und Cyclophosphamid.
Z. ges. inn. Med. 143, 105-120.

Fortner, J., 1938: Über die Psittakose. 13. Intern. Tierärztl. Kongreß Zürich-Interlaken (Schweiz.) 1938, II, 863-878.

Fortner, J., 1953: Die Psittakose. Mh. Tierheilk. 5, 129-134.

Fortner, J., 1955: Sammelreferat, Über die Psittakose.
Dt. tierärztl. Wschr. 62, 283-284.

Fortner, J., 1969: Aus lebenslanger Arbeit auf dem Gebiet der Mikrobiologie und Tierseuchenforschung.
Berl. Münch. tierärztl. Wschr. 81, 189-192.

Freeman-Narrood, M., 1962: The pharmacology of methotrexate.

In: Methotrexate in the treatment of cancer, Ed. by Potter, R.
and Wiltshaw, E., Bristol, 1962.

Fritzsche, K., 1956: Ein Beitrag zur Ätiologie, Symptomatologie und Therapie
des ansteckenden Schnupfens der Reisetäubchen und dessen Beziehung zur
Ornithose.

Dt. tierärztl. Wschr. 63, 11-15.

Fritzsche, K., 1964: Künftige Aspekte bei der Bekämpfung der Ornithose/
Psittakose in der Bundesrepublik Deutschland.

Arch. exp. Vet. Med. 18, 115-122.

Fritzsche, K., Lippelt, H. und Weyer, F., 1956: Beiträge zur Epidemiologie,
Diagnose und Therapie der Ornithose der Tauben.

Berl. Münch. tierärztl. Wschr. 69, 61-67.

Fritzsche, K. und Hürter, K.-P., 1976: Serologische und seroepidemiologische
Untersuchungen über die Verbreitung der Ornithose bei Brieftauben-
züchtern in der Bundesrepublik Deutschland.

Zbl. Vet. Med. B 23, 181-189.

Geissler, A., Rojahn, A. und Stein, H., 1970: Sammlung tierseuchenrechtlicher
Vorschriften, München, 1970.

Gerlach, F., 1936: Mensch als Psittakosevirussträger nach "stummer"
Infektion mit Psittakosevirus.

Z. Hyg. Infekt. Krankh. 118, 709-721.

Gerlach, F., 1936a: Beobachtungen bei der in Österreich auftretenden
Psittakose.

Z. Hyg. Infekt. Krankh. 118, 574-593.

Giménez, D.F., 1964: Staining rickettsiae in yolk-sac cultures.

Stain Technol. 39, 135-140. (zit nach Storz, J., 1971).

- Gneuss, W. und Koitzsch, K.-D., 1961: Ober eine Epidemie von Ornithose mit häufigen Rezidiven.
Dte. Gesundh.Wes. 16, 964-972.
- Gogolak, F.M. und Weiss, E., 1950: The effect of antibodies on agents of the psittacosis-lymphogranuloma group. II. The effect of aureomycin.
J. infect. Dis. 87, 264-274.
- Golub, O.J., 1948: Acquired resistance of psittacosis virus to sulfadiazine and effects of chemical antagonists on sulfonamide activity.
J. Lab. clin. Med. 33, 1241-1248 (zit. nach Storz, J. 1971).
- Gönnert, R., 1941: Ober ein neues, dem Erreger des Lymphogranuloma inguinale ähnliches Mäusevirus.
Klin. Wschr. 20, 76-78.
- Gordon, M.H., 1930: Virus studies concerning the etiology of psittacosis.
Lancet, 1, 1174-1176 (zit nach Storz, J. 1971).
- Gordon, F.B., Andres, V.W. und Wagner, J.C., 1957: Development of resistance to penicillin and to chlortetracycline in psittacosis virus.
Virology 4, 156-171.
- Gordon, F.B., Bloom, H.H. und Mamay, H.K., 1960a: Studies with drug-resistant strains of psittacosis virus. I. Comparison of four strains used in mixed cultures.
Virology 11, 474-485.
- Gordon, F.B., Mamay, H.K. und Trimmer, R.W., 1960b: Studies with drug-resistant strains of psittacosis virus. II. Derivation of strains with dual drug resistance from mixed culture of singly resistant strains.
Virology 11, 486-498.
- Gordon, F.B. und Quan, A.C., 1962: Drug susceptibilities of the psittacosis and trachoma agents.
Ann. N.Y. Acad. Sci. 98, 261-270 (zit nach Storz, J., 1971).

- Greenland, R.M., 1961: A nonlethal mutant of penicillin-resistant feline pneumonitis virus.
J. infect. Dis. 108, 287-292.
- Greenland, R.M. und Moulder, J.W., 1961: A search for genetic interaction in the psittacosis group.
J. infect. Dis. 108, 293-303.
- Gruber, F., 1975: Immunologie der Versuchstiere; Ein Beitrag zur Charakterisierung immunologischer Modelle, Berlin-Hamburg, 1975.
- Haaß, K., 1973: Kritische Betrachtung der Psittakosesituation in Südwestdeutschland.
Tierärztl. Umsch. 28, 625-628.
- Hanna, L., Dawson, C.R., Briones, O., Thygeson, P. und Jawetz, E., 1968: Latency in human infections with TRIC-agents.
J. Immun. 101, 43-50.
- Hare, J.D. und Morgan, H.R., 1954: Studies on the factors essential to the initiation and maintenance of multiplication of psittacosis virus (6BC strain) in deficient cells in tissue culture.
J. exp. Med. 99, 461-479.
- Heggie, A.D. und Morgan, H.R., 1956: Latent viral infection of cells in tissue culture, III. Role of certain amino acids.
Proc. Soc. exp. Biol. Med. 92, 506-509.
- Higashi, N., Notake, K. und Fukada, T., 1969: Growth characteristics of the meningopneumonitis virus in strain L cells.
Ann. Rept. Inst. Virus Res., Kyoto Univ. 2, 23-56 (zit. nach Storz, J., 1971).
- Higashi, N., 1964: The mode of reproduction of the psittacosis-lymphogranuloma-trachoma (PLT).
Int. Rev. exp. Path. 3, 35-65 (zit. nach Storz, J., 1971).
- Hoffmann, H. (ed.), 1972: Infektionsschutz des Tieres, Berlin, 1972.

- Humphrey, J.H. und White, R.G., 1971: Kurzes Lehrbuch der Immunologie, Stuttgart, 1971.
- Ilchmann, G., Baumann, G. und Gottwald, G., 1975: Experimentelle Infektion von Meerschweinchen mit Chlamydien.
Arch. exp. Vet. Med. 29, 869-878.
- Jenkin, H.M. und Hung, S.C., 1967: Effect of vancomycin on the growth of psittacosis-trachoma agents cultivated in eggs and cell cultures.
Appl. Microbiol. 15, 10-12 (zit. nach Storz, J. 1971).
- Johnson, K.M. und Morgan, H.R., 1956: Latent viral infection of cells in tissue culture, II. Relationship of cell nutrition to initiation of growth of psittacosis virus.
J. exp. Med. 103, 765-775.
- Karr, H.V., 1943: Study of latent pneumotropic virus of mice.
J. infect. Dis. 72, 108-116.
- Kleikamp, I., 1963: Ein Beitrag zur Antibiotikaspiegelbestimmung im Blutserum und in den Organsuspensionen bei Wellensittichen.
Mh. Tierheilk. 15, 107-109.
- Kleikamp, I. und Schaal, E., 1972: Die Fluoreszenz-Antikörper-Technik als Verfahren zur Diagnose der Psittakose/Ornithose.
Zbl. Vet. Med. B. 19, 486-496.
- Krivinka, M.V., 1959: Die Ornithose der Enten.
16. Int. Tierärztl. Kongress Abh. Madrid II, 363-366.
- Kuschinsky, G. und Lüllmann, H., 1976: Kurzes Lehrbuch der Pharmakologie und Toxikologie. 7. Auflage, Stuttgart, 1976.
- Langen, P., 1968: Antimetaboliten des Nucleinsäure-Stoffwechsels - Biochemische Grundlagen der Wirkung. Berlin, 1968.

- Lehnert, Ch. und Hille, G., 1960: Serologische Ornithose-Untersuchungen in Zucht- und Mastentenbeständen.
Berl. Münch. tierärztl. Wschr. 73, 441-444.
- Lehnert, Ch., 1962: Zur Frage der Übertragung des Ornithosevirus über das Brutei bei Enten. Berl. Münch. tierärztl. Wschr. 75, 151-152.
- Lin, H.S., 1968: Stability of the nucleic acids of L cells after infection with meningopneumonitis agent.
J. Bact. 96, 2049-2053 (zit. nach Storz, J., 1971).
- Lippelt, H. und Brand, G., 1955: Die Komplementbindungsreaktion in der Diagnostik der Ornithose.
Dt. med. Wschr. 80, 110-114.
- Litwin, J., 1959: The growth cycle of the psittacosis group of micro-organisms.
J. infect. Dis. 105, 129-160 (zit nach Storz, J., 1971).
- Litwin, J., Officer, J.E., Brown, A. und Moulder, J.W., 1961: A comparative study of the growth cycle of different members of the psittacosis group in different host cells.
J. infect. Dis. 109, 251-279.
- Lübke, H. und Ciszewski, W., 1963: Gedanken zur Reform des Psittakose-Ornithose-Gesetzgebung.
Berl. Münch. tierärztl. Wschr. 76, 393-396.
- Lüthgen, W., 1972: Aktuelle Fragen zur Ornithose/Psittakose-Bekämpfung - Epidemiologie - gesetzliche Bestimmungen.
Ärztl. Prax. 24, 2298-2302, 2349-2352.
- Lüthgen, W., 1972a: Untersuchungen zur Therapie der Taubenornithose mit Chlortetracyclin.
Fortschritte der Veterinärmedizin, 7, 9. Kongreßbericht, 153-158.
Berlin-Hamburg, 1972.

- Lüthgen, W., Valder, W.-A. und Wachendörfer, G., 1973: Beziehung zwischen der oralen Aufnahme des Chlortetracyclins (CTC), seine Konzentration im Blut sowie seine Ausscheidung in den Faeces bei Wellensittichen (*Melopsittacus undulatus*).
Berl. Münch. tierärztl. Wschr. 86, 454-457.
- Lüthgen, W., 1974: Erste Versuche zur Rtenzierung des Chlortetracyclin-Blutspiegels bei Tauben nach oraler CTC-Applikation unter Zusatz von Dikaliumterephthalat.
Fortschritte der Veterinärmedizin 20, 10. Kongreßbericht, 234-236.
Berlin-Hamburg, 1974.
- Marcus, I. und Rehmann, S., 1971: Beitrag zur Kontrolle der Chlortetracyclinbehandlung bei importierten Papageien und Sittichen durch die Blutspiegeluntersuchung.
Berl. Münch. tierärztl. Wschr. 84, 92-94.
- Mayr, A., 1958: Zur Epidemiologie und Epizootologie der Viruskrankheiten I. und II. Teil. Mh. Tierheilk. 10, 13-26, 89-105.
- Mayr, A. und Kalcher, K., 1960: Vergleichende Studien über die Züchtung von Geflügelpockenvirus in der Zellkultur.
Arch. Virusforsch. 10, 72-102.
- Mayr, A., Schliesser, Th. und Merk, W., 1969: Infektion - Infektionskrankheit - Seuche.
Mitteilungen für Tierärzte, 22, Jhg. Heft 4/1969, 3-16.
- Mayr, A., 1972: Belebte Krankheitsursachen. In: Frei, W.; Allgemeine Pathologie für Tierärzte und Studierende der Tiermedizin, Berlin-Hamburg, 1972.
- Mc Clausland, I.P., Carter, M.E. und O'Hara, P.J., 1972: Clinical ornithoses in a New Zealand aviary.
N.Z. vet. J. 20, 4, 53-54.
- Mc Closkey, R.V. und Morgan, H.R., 1961: Latent viral infection of cells in tissue culture. VIII. Morphological observations of psittacosis virus in L-cells.
Proc. Soc. exp. Biol. Med. 106, 85-88.

- Meyer, K.F. und Eddie, B., 1933: Latent psittacosis infections in shell parrakeets.
Proc. Soc. exp. Biol. Med. 30, 484-488.
- Meyer, K.F. und Eddie, B., 1933a: Latent psittacosis infections in mice
Proc. Soc. exp. Biol. Med. 30, 483-484.
- Meyer, K.F., 1941: Immunity and mononuclear response in psittacosis.
Schweiz. med. Wschr. 12, 436-440.
- Meyer, K.F. und Eddie, B., 1951: Human carrier of psittacosis virus.
J. infect. Dis. 88, 109-125.
- Meyer, K.F. und Eddie, B., 1955: Chemotherapy of natural psittacosis and ornithosis field trial of tetracycline, chlortetracycline, and oxytetracycline.
Antibiotics Chemother. 5, 289-299.
- Meyer, K.F., Eddie, B., Richardson, J.A., Shipkowitz, N.L. und Muir, R.J., 1958
Chemotherapy in the control of psittacosis in parakeets.
In: Beaudette, F.R. (ed.), Progress in psittacosis research and control
New Brunswick/USA, 1958.
- Meyer, K.F., 1962: Antimicrobial therapy and prophylactic immunization in the control of psittacosis or bedsonia infections in show birds.
Schweiz. med. Wschr. 50, 1932-1938.
- Meyer, K.F. und Eddie, B., 1962a: Immunity against some bedsonia in man resulting from infection and in animals from infection or vaccination.
Ann. N.Y. Acad. Sci. 98, 288-313.
- Meyer, K.F., 1965: Ornithose. In: Biester and Schwarte; Diseases of poultry, 5. Aufl., 680-681, 701-703., Ames Iowa, 1965.

- Mields, W., Hentschke, J., Becker, W. und Teufel, P., 1974: Die Immunoperoxidase-Methode zum Nachweis von Virus- und Chlamydien-Antigenen. II. Mitteilungen: Darstellung der Entwicklung von Chlamydia psittaci in Peritonealmakrophagen infizierter Mäuse.
Zbl. Vet. Med. B 21, 48-58.
- Milek, E. und Grantova, H., 1966: zit. nach Beer, J., 1968. ;
- Mohr, W., 1955: Die Ornithose in Deutschland. Der Landarzt 31, 73-76.
- Monreal, G., 1958: Untersuchungen über den direkten und indirekten Virusnachweis bei der Ornithose der Tauben.
Zbl. Vet.Med. 5, 273-294.
- Monreal, G., 1959: Ornithoseinfektionen des Menschen durch Haus- und Schlachtgeflügel aus der Sicht der Veterinärmedizin.
Der Landarzt, 35, 1163-1165.
- Monreal, G., 1960: Systematische Untersuchungen von Wellensittichbeständen und Pathogenitätsprüfung verschiedener Psittakosestämmen mit Hilfe des Mäuseversuches.
Mh. Tierheilk. 12, 101-106.
- Monreal, G., 1963: Künftige Aspekte bei der Bekämpfung der Ornithose (Psittakose).
Zbl. Vet. Med. 10, 241-251.
- Morgan, H.R., 1952: Factors related to the growth of Psittacosis virus (Strain 6BC). I. Pteroylglutamic Acid, Vitamin B₁₂ and citrovorum Faktor.
J. exp. Med. 95, 269-283.
- Morgan, H.R., 1956: Latent viral infection of cells in tissue culture, I. Studies on latent infection of chick embryo tissues with psittacosis virus.
J. exp. Med. 103, 37-47.

- Moritsch, H. und Kovac, W., 1956: Virologischer und histologischer Organbefund eines Wellensittichs bei Psittakosis.
Schweiz.Z. Path. Bakt. 19, 482-488.
- Moulder, J.S., Mc Cormack, B.R.S., Gogolak, F.M., Zebovitz, M.M. und Itatani, M.
1955: Production and properties of a penicillin-resistant strain of feline-pneumonitis virus.
J. infect. Dis. 96, 57-74 (zit. nach Storz, J. 1971).
- Moulder, J.W., Novosel, D.L. und Officer, J.E., 1963: Inhibition of the growth of the agents of the psittacosis group by D-cycloserine and its specific reversal by D-alanine.
J. Bact. 85, 707-711.
- Moulder, J.W., 1964: The psittacosis group as bacteria.
New York, 1964 (zit. nach Storz, J., 1971).
- Moulder, J.W., 1969: A model for studying the biology of parasitism: Chlamydia psittaci and mouse fibroblasts (L-cells).
Bio. Science 19, 875-881.
- Moulder, J.S., 1974: Order I. Rickettsiales. In: Bergey's Manual of Determinative Bacteriology. 8. Aufl. 882-914. Baltimore 1974.
- Murray, E.S., 1964: Guinea pig inclusion conjunctivitis virus, 1. Isolation and identification as a member of the psittacosis-lymphogranuloma-trachoma group.
J. infect. Dis. 114, 1-12.
- Niederehe, H., 1956: Veterinärpolizeiliche Maßnahme bei der Ornithose?
Mh. Tierheilk. 8, 100-103.
- Officer, J.E. und Brown, A., 1960: Growth of psittacosis virus in tissue culture.
J. infect. Dis. 107, 283-299.
- Officer, J.E. und Brown, A., 1961: Serial changes in virus and cells cultures chronically infected with psittacosis virus.
Virology, 14, 88-99.

- Onderscheka, K. und Jaksch, W., 1965: Potenzierungsversuche mit Chlor- und Oxytetracyclin beim Geflügel.
Wien. tierärztl. Mschr. 52, 837-850.
- Ortel, S., 1960: Serologische und epidemiologische Untersuchungen während einer Ornithose-Epidemie bei Angestellten eines Geflügelschlachthofes.
Zbl. Bakt. Hyg., I. Abt. 180, 441-448.
- Page, L.A., 1965: High body temperature of pigeons and sparrows as a factor in their resistance to an agent of the psittocosis group.
Bull. Wildlife Dis. Ass. 1, 49-53 (zit. nach Storz, J. 1971).
- Page, L.A. und Erickson, K., 1969: Serological evidence of natural and experimental transfer of chlamydia psittaci between wild and domestic animals.
Bull. Wildlife Dis. Ass. 5, 284-290 (zit. nach Storz, J., 1971).
- Page, L.A., 1974: Order II. Chlamydiales. In: Bergey's Manual of Determinative Bacteriology 8. Aufl. 914-928, Baltimore, 1974.,
- Pollard, M. und Sharon, N., 1963: Induction of prolonged latency in psittacosis infected cells by aminopterin.
Proc. Soc. exp. Biol. Med. 112, 51-54.
- Pollard, M. und Starr, T.J., 1962: Studies of intracellular virus with acridine-orange flourchrome.
Prog. med. Virol. 4, 54-69.
- Pollard, M. und Tanami, Y. 1962: Cytochemistry of trachoma virus replication in tissue cultures.
Ann. N.Y. Acad. Sci. 38, 51-61. (zit. nach Storz, J. 1971).
- Popovici, V. und May, J., 1960: zit. nach Beer, J., 1968.
- Quan, S.F., Meyer, K.F. und Eddie, B., 1950: Attempts to cure parakeets psittacosis carriers with aureomycin and penicillin.
J. Infect. Dis. 86, 132.

Reed, L.J., Muench, H., 1938: A simple methode of estimating fifth per cent endpoint.

Am. J. Hyg. 27, 493-497.

Reichsgesetzblatt, 1934: Gesetz zur Bekämpfung der Papageienkrankheit (Psittacosis) und anderer übertragbarer Krankheiten vom 3. Juli 1934. Reichsgesetzblatt Teil I, 532-534.

Reichsgesetzblatt, 1934a: Verordnung des Reichsministers des Innern zur Bekämpfung der Papageienkrankheit (Psittacose) v.14. August 1934. Reichsgesundheitsblatt 9, 767-770.

Reichsgesetzblatt, 1937: Zweite Verordnung zur Bekämpfung der Papageienkrankheit (Psittacosis) vom 13. Dezember 1937. Reichsgesetzblatt Teil I, 1383.

Reichsgesetzblatt, 1938: Dritte Verordnung zur Bekämpfung der Papageienkrankheit (Psittacosis) vom 4. November 1938. Reichsgesetzblatt Teil I, 1561.

Reichsgesundheitsblatt, 1934: Begründung zum Gesetz zur Bekämpfung der Papageienkrankheit (Psittacosis). Reichsgesundheitsblatt 9, 595-596.

Röhner, H. (ed.), 1968: Handbuch der Virusinfektionen bei Tieren, Jena, 1968.

Rolle, M. und Mayr, A., 1966: Mikrobiologie und allgemeine Seuchenlehre. Stuttgart, 1966.

Rüffle, F., 1962: Über Funde von Ornithosevirus in Hausenteneiern. Mh. VetMed. 17, 879-881.

Schliesser, Th., 1972: Immunologie. In: Frei, W.: Allgemeine Pathologie für Tierärzte und Studierende der Tiermedizin, 6. Aufl. Berlin-Hamburg 1972.

- Schmidt, W. und v. Sprockhoff, E., 1953: Aureomycin bei experimenteller Psittakose der Maus.
Z. Hyg. Infekt Krankh. 132, 122-131.
- Schmittdiel, E., 1961: Versuche zur Konservierung des Psittakosevirus durch Vacuumgefrieretrocknung.
Zbl. Bakt. Hyg. I. Abt. Orig. 181, 446-450.
- Schoop, G., 1969: persönliche Mitteilung an Bürki, F., 1970.
- Shinarov, L., Runevski, N. und Vassileva, V., 1971: Morphologic and cytochemic studies an the development of chlamydia psittaci in tissue culture of a cold-blooded animal at 20°C.
Zbl. Bakt. Hyg. Abt. I. Orig. 216, 9-14.
- Statistisches Bundesamt, Wiesbaden , 1961 bis 1975: Fachserie A- Bevölkerung und Kultur - Reihe 7: Gesundheitswesen, I. meldepflichtige Krankheiten.
Stuttgart und Mainz.
- Starr, T.J , Pollard, M., Tanami, Y. und Moore, R.W., 1960: Cytochemical studies with psittacosis virus by fluorescence microscopy.
Tex. Report. Biol. med. 18, 501-514. (zit. nach Storz, J., 1971).
- Stewart, R.B., 1962: Growth and lethal effects of the psittacosis agent in chicken embryos of different agens.
J. Bact. 83, 423-428.
- Storz, J., Call, J.L. und Miner, M.L., 1963: Meningo-encephalitis in young chickens resulting from infection with an ornithosis agent.
Avian Dis. 7, 480-494.
- Storz, J., 1964: Ober eine natürliche Infektion eines Meerschweinchenbestandes mit einem Erreger aus der Psittakosis-Lymphogranuloma Gruppe.
Zbl. Bakt. Abt. I. Orig. 193, 432-446.
- Storz, J., 1971: Chlamydia und chlamydia induced disease.
Springfield - Illinois, 1971

Strobel, W., 1954: Beitrag zum Krankheitsbild der Ornithose im Kindesalter.
Dt. med. Wschr. 79, 76-80.

Sueltenfluess, E.A. und Pollard, M., 1963: Cytochemical assay of interferon
produced by duck hepatitis virus.
Science 139, 595-598. (zit. nach Storz, J., 1971).

Tamura, A. und Iwanaga, M., 1965: RNA synthesis in cell infected with the
meningopneumonitis agents.
J. Molec. Biol. 11, 97-108 (zit. nach Storz, J., 1971).

Tamura, A. und Manire, G.P., 1968: Effect of penicillin on the multiplication
of meningopneumonitis organisms (*Chlamydia psittaci*).
J. Bact. 96, 875-880.

Tanami, Y. und Pollard, M., 1962: Effect of p-fluorophenylalanine on psittacosis
virus in tissue cultures.
J. Bact. 83, 437-442.

Teichmann, B., 1976: Tetracyclinblutspiegelbestimmung bei Nymphensittichen
(*Nymphicus hollandicus*).
Vet. med. Diss. München, 1976.

Vester, J.L., Lanier Thacker, W. und Cacciapuoti, A.F., 1972: Detection of
chlamydia psittaci by immunofluorescence.
Applied Microbiology 24 Nr. 1 July 1972, 8-12.

Wachendörfer, G., 1968: Zum Problem der Wirksamkeitskontrolle der antibio-
tischen Psittakose-Prophylaxe bei importierten Psittaciden - Vorschlä-
ge zur Koordinierung der Technik bei der Überprüfung von Fäzes.
Dt. tierärztl. Wschr. 75, 201-204.

Wachendörfer, G., 1969: Zum gegenwärtigen Stand der Chemoprophylaxe der
Psittakose bei Sittichen und Papageien sowie Vorschläge für die
zukünftige Seuchenbekämpfung.
Dt. tierärztl. Wschr. 76, 105-111 und 153-157.

- Wachendörfer, G., 1970: Zur Epidemiologie, Chemoprophylaxe und -therapie der Psittakose.
Dt. tierärztl. Wschr. 77, 382-385.
- Wachendörfer, G., 1971: Zur Diagnostik; Chemoprophylaxe und Therapie der Psittakose bei Sittichen und Papageien.
Prakt. Tierärztl., 13, 604-610.
- Wachendörfer, G., 1972: Zur Chemoprophylaxe und -therapie der Psittakose.
Fortschritte der Veterinärmedizin Heft 17, 9. Kongreßbericht, 145-152.
- Wachendörfer, G., Lüthgen, W. und Kantor, H., 1973: Einsatz eines Chlortetracyclin-haltigen, pelletierten Medizinalfutters bei größeren Sittichen und Papageien im Rahmen der Prophylaxe und Therapie der Psittakose.
Dt. tierärztl. Wschr. 80, 173-178 und 202-205.
- Wachendörfer, G., 1973a: Epidemiology and control of psittacosis.
J. Am. vet. med. Ass. 162,4, 298-303.
- Wachendörfer, G., Lüthgen, W., Ehlkes, G. und Berger, J., 1973b: Ein Beitrag zur Frage der Resistenz von Chlamydia psittaci gegen Chlortetracyclin.
Berl.Münch. tierärztl. Wschr. 86, 106-111.
- Wachendörfer, G., 1974: Neuere Erkenntnisse auf dem Gebiet der Zoonosen.
Die blauen Hefte für den Tierarzt, 52, 1-17.
- Wagner, J.C., Anderew, V.W. und Watson, M.S., 1951: Effect of aureomycin on viruses of the psittacosis-Lymphogranuloma-venereum group in embryonated eggs and mice.
Proc. Soc. exp. Biol. Med. 76, 79-83,
- Weiss, E., 1968: Comparative metabolism of rickettsiae and other host dependent bacteria.
Zbl. Bakt. (Orig.) 206, 292-298.
- Weyer, F., 1955: Eigene Beobachtungen beim Nachweis von Psittakose oder Ornithose im Tierversuch.
Schweiz. Z. allg. Pathol. Bakteriologie, 18, 1105-1111.

- Weyer, F. und Lippelt, H., 1956: Ein Beitrag zur Frage der Tauben-Ornithose in Deutschland.
Z. Hyg. Infekt. Krankh. 143, 223-246.
- Weyer, F., 1959: Zur Lage der Psittakose und Ornithose in Deutschland.
Münch. med. Wschr. 101, 851-856.
- Weyer, F., 1964: Weitere Beobachtungen im Rahmen der diagnostischen Tierversuche bei Ornithose-Psittakose mit Bemerkungen über die Entwicklung der Ornithose-Situation in Deutschland während der letzten Jahre.
Zbl. Bakt. (Orig.) 193, 147-178.
- Wiesmann, E., 1971: Medizinische Mikrobiologie, Stuttgart, 1971.
- Wolff, A., 1967: Veterinär-Vorschriften in Bayern, 11. Ergänzungslieferung
Stand: 1. Januar 1977, München 1977.
- Zeh, CH., 1976: Behandlungsversuche bei Psittakose des Nymphensittichs (*Nymphicus hollandicus*).
Vet.-med. Dis. München, 1976.
- Zucker, H., 1964: Aufklärung einer durch Kalziumüberschuß in der Diät verursachte Wachstumsdepression durch Chlortetracyclin.
Tierphysiol. Tierernähr. Futtermittelk. 19, 236-244.

Herrn Prof. Dr. Gg. Beck möchte ich für die Überlassung dieses interessanten Themas und die Bereitstellung des Arbeitsplatzes danken.

Mein besonderer Dank gilt Herrn Dr. H. Gerbermann für die mir jederzeit gewährte freundliche Anleitung und Unterstützung.

Danken möchte ich auch allen Angehörigen der Anstalt, besonders den Mitarbeitern des virologischen Labors für die gute Zusammenarbeit.

Lebenslauf

Am 4. Oktober 1946 wurde ich in Xanten/Niederrhein geboren.

Seit dem 18. Februar 1975 bin ich verheiratet.

Nach dem Besuch der Volksschule in Xanten und des Collegium Ludgerianum in Münster legte ich am 7. Juli 1967 am Städtischen Wilhelm-Hittorf-Gymnasium in Münster/i. Westf. die Reifeprüfung ab.

Nach der Ableistung des Wehrdienstes begann ich im Sommersemester 1969 an der Tiermedizinischen Fakultät der Universität München mit dem Studium der Veterinärmedizin, das ich im April 1974 mit dem Staatsexamen abschloß. Seit Mai 1974 bin ich als Tierarzt approbiert.

Die vorliegende Arbeit begann ich im Herbst 1974 am Landesuntersuchungsamt für das Gesundheitswesen Südbayern - Fachbereich Veterinärmedizin.

Seit dem 1. September 1976 absolviere ich den Vorbereitungsdienst für die Anstellung zum tierärztlichen Staatsdienst in Bayern,

